



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

Título:

**AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS
EN CEPAS DE *Escherichia coli* EN AISLADOS DE DEYECCIONES EN POLLOS
BROILER DE LOS CRIADEROS DE POALÓ DEL CANTÓN LATACUNGA.**

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

Autor:

Juma Carcelén Erick Sebastian

Tutor:

Yunga Herrera Vanessa del Rosario MVZ, Mtr.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Erick Sebastián Juma Carcelén, con cédula de ciudadanía No. 1750640524, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Aislamiento y estudio de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones en pollos broiler de los criaderos de Poaló del cantón Latacunga”, 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, 24 de agosto del 2022



Erick Sebastián Juma Carcelén
Estudiante
CC. 1750640524



MVZ. Mtr. Vanessa Herrera Yunga
Docente Tutor
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 **ERICK SEBASTIAN JUMA CARCELÉN**, identificado con cédula de ciudadanía **1750640524** 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 “Aislamiento y estudio de la resistencia a los antibacterianos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones en pollos broiler de los criaderos de Poaló 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: Octubre 2017 - Marzo 2018

Finalización de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutor: MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

Tema: “Aislamiento y estudio de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones en pollos broiler de los criaderos de Poaló 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.



Erick Sebastian Juma Carcelén

EL CEDENTE

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.

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 LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Escherichia coli* EN AISLADOS DE DEYECCIONES EN POLLOS BROILER DE LOS CRIADEROS DE POALÓ DEL CANTÓN LATACUNGA”, 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, 24 de agosto del 2022



MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

DOCENTE TUTOR

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: Erick Sebastian Juma Carcelén, con el título del Proyecto de Investigación: “Aislamiento y estudio de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones en pollos broiler de los criaderos de Poaló 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 realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 24 de agosto del 2022



Lector 1 (Presidente)

MVZ. Cristian Arcos Álvarez, Mg.

CC: 1803675634



Lector 2

Dra. Elsa Janeth Molina, Mg.

CC: 0502409634



Lector 3

MVZ. Paola Jael Lascano, Mg.

CC: 050291728

AGRADECIMIENTO

A mi familia a la cuál debo todos mis logros actuales, me brindaron su apoyo y presencia en esta etapa.

A mis padres, siempre tengo presente la ayuda que recibí de ellos, sus consejos y buenos deseos fueron mi sustento para centrarme y continuar mi camino hasta la culminación de esta fase de mi vida.

A la Doctora Alejandra Recalde, por compartir conmigo su tiempo y experiencia, trabajando, guiándome e inspirándome, mostrándome la importancia de una rama diferente de la medicina veterinaria, la fauna silvestre, a cuál me quiero dedicar.

A mis docentes y profesores los cuales me transmitieron conocimientos con paciencia que fueron de gran ayuda para inspirarme.

A mis amigos y compañeros de investigación, por su tiempo, buenos momentos y compañía.

Erick Sebastian Juma Carcelén

DEDICATORIA

Estoy consciente que he dado el primer paso para dedicarme a algo que he añorado desde niño, guardo con especial afecto las palabras, consejos y tiempo que me dieron cada uno de ustedes.

A mis padres Darwin y María, por su paciencia, cariño y apoyo absoluto

A mi tía Cinthya por brindarme su tiempo, momentos y experiencias únicos.

A mi abuela Angela por siempre estar pendiente de mí y toda mi familia.

Pensar en ustedes me ha servido para centrarme y cumplir mis objetivos.

Sebas

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	i
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iv
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
1.- INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2.- RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
3.- JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	4
4.- BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	4
4.1- Beneficiarios directos	4
4.2.- Beneficiarios indirectos.....	5
5.- PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	5
6.- OBJETIVOS.....	6
6.1 Objetivo general	6
6.2 Objetivos Específicos.....	7
7.- ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.	7
8.- FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICO	8

8.1.- Información relevante sobre <i>E. coli</i>	8
8.2- Clasificación taxonómica	9
8.2.1.- Cepas de <i>E. coli</i>	9
8.3.- Fases de contaminación hacia los alimentos.....	10
8.4.- Mecanismos de resistencia y adaptación.....	11
8.5.-Estrategias de control	13
8.6.- Antibióticos	14
9.- HIPÓTESIS	17
10.- METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	17
10.1.-Ubicación	17
10.1.2.- Enfoque	18
10.1.3.- Diseño experimental	18
10.1.5.- Proceso de investigación	18
1.- Recolección	18
2.- Nutrición de las bacterias	19
3.- Cultivo	20
4.- Identificación	22
5.- Purificación.....	22
6.- Tinción Gram	23
7.- Pruebas bioquímicas	24
8.- Pruebas de sensibilidad	26
8.1.- Colocación de discos de sensibilidad.....	27
11.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
11.1 Muestras descartadas en Agar MacConkey.	29
11.2 Resultados de las pruebas bioquímicas MicroGen.	30
11.2.1 Pruebas de sensibilidad.....	31
11.3. Resultados de los antibióticos	32
11.3.1 Cefalosporinas	32
11.3.2 Quinolonas	33
11.3.3 Fluoroquinolonas.....	34

11.3.4 Fenicoles	35
11.3.5. Misceláneos.....	36
11.3.6 Aminoglucósidos.....	36
11.3.7 Sulfonamidas.....	37
12.- IMPACTOS	38
13.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
13.1.- RECOMENDACIONES.....	39
14.- BIBLIOGRAFÍA.....	40
15.- ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.	7
Tabla 2. Categoría taxonómica de <i>Escherichia coli</i>	9
Tabla 3. Grupos antibióticos de interés para el proyecto de investigación y sus efectos.14	
Tabla 4. Generalidades del manejo de los medios y agares.....	18
Tabla 5. Fórmula aproximada por cada litro de TSB	20
Tabla 6. Fórmula aproximada por cada litro de agar MacConkey II con sorbitol	20
Tabla 7. Fórmula aproximada por cada litro de agar Nutriente.	23
Tabla 8. Fórmula aproximada por cada litro de agar Mueller Hinton.	26
Tabla 9. Estándares de sensibilidad antimicrobiana mediante medición del diámetro de halo determinado por el Clinical and Laboratory Standards Institute.	28
Tabla 10. Resultados de las pruebas bioquímicas Microgen.	30
Tabla 11. Halos de inhibición de las diferentes muestras... ..	31
Tabla 12. Determinación de la sensibilidad de muestras... ..	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del proyecto de investigación.....	17
Figura 2. Método de transferencia aséptica.....	21
Figura 3. Método de transferencia aséptica.....	21
Figura 4. Técnica de siembra en estría.....	21
Figura 5. Técnica de siembra en estría.....	21
Figura 6. Colonias de <i>E. coli</i> en Agar MacConkey.....	22
Figura 7. Bacterias Gram negativas.....	23
Figura 8. Bacterias Gram positivas.....	23
Figura 9. Tabla de referencia de sustratos, pruebas bioquímicas de MicroGen	24
Figura 10. Carta de color, pruebas bioquímicas de MicroGen	25
Figura 11. Ejemplo de Hoja de Resultados	25
Figura 12. técnica de dilución	27
Figura 13. Colocación de discos de sensibilidad	28
Figura 14. Porcentaje de muestras descartadas en Agar MacConkey	29
Figura 15. Muestras aptas en Agar MacConkey.....	29
Figura 16. Resultados de Microgen ID	31
Figura 17. Resistencia a la cefalexina.....	33
Figura 18. Resistencia a la ciprofloxacina.....	33
Figura 19 Resistencia a la norfloxacina.. ..	34
Figura 20. Resistencia a la enrofloxacin.....	35
Figura 21. Resistencia al florfenicol.....	35
Figura 22. Resistencia a la fosfomicina.....	36
Figura 23. Resistencia a la gentamicina	37
Figura 24. Resistencia a Sulf+Trimetroprim	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Hoja de vida del tutor del proyecto.....	47
Anexo 2. Hoja de vida del Autor del proyecto	48
Anexos 3. Recolección de muestras en medios de transporte Stuart.....	49
Anexos 4. Almacenamiento y transporte de muestras.	49
Anexos 5. Preparación de Caldo de soja y enriquecimiento de muestras en laboratorio	49
Anexos 6. Preparación, inoculación y fase de encubación de Agar MacConkey	50
Anexos 7. Cremiento e identificación de colonias de <i>E.coli</i>	50
Anexos 8. Observación en microscopio de muestras después de tinción Gram.....	51
Anexos 9. Purificación de colonias y pruebas bioquímicas.....	51
Anexos 10. Colocación de discos de sensibilidad, análisis de resultados y ejemplos de colonias resistentes.	51

1.- INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: Aislamiento y estudio de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones en pollos broiler de los criaderos de Poaló del cantón Latacunga.

Fecha de inicio: 01/08/2022.

Fecha de finalización: 18/08/2022.

Lugar de ejecución: Barrio San José, Parroquia Poaló, Cantón Latacunga, Provincia Cotopaxi

Nombres de equipo de investigadores

Mvz. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr. (Anexo 1)

Erick Sebastian Juma Carcelén (Anexo 2)

Área de Conocimiento: Agricultura – Veterinaria

SUB ÁREA:

- **64:** Veterinaria, Auxiliar de Veterinaria.

Línea de investigación: Salud Animal.

Sub líneas de investigación de la Carrera: Microbiología, Parasitología, Inmunología y Salud animal.

Facultad que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia: Carrera de Medicina Veterinaria.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Escherichia coli* EN AISLADOS DE DEYECCIONES EN POLLOS BROILER DE LOS CRIADEROS DE POALÓ DEL CANTÓN LATACUNGA.”

AUTOR: Juma Carcelén Erick Sebastian

2.- RESUMEN

El estudio de la sensibilidad que poseen las bacterias hacia los antibióticos se ha convertido en una herramienta importante en los últimos años, resulta esencial para la determinación de su resistencia y evaluar la efectividad de los tratamientos que se usarán para combatirlos. El presente proyecto de investigación asumió el objetivo de analizar la resistencia hacia los antibacterianos (RAM) de la bacteria *Escherichia Coli* procedente de los pollos broiler de los criaderos de Poaló. Para el trabajo de investigación se recolectaron 50 muestras en total, de las cuales 40 fueron cloacales y 10 se tomaron directamente de las deyecciones presentes en el suelo, fueron marcadas y conservadas en medios de transporte Stuart, se usó el método ISO 16654: 2001, en el proceso de enriquecimiento se usó caldo de soja con Trypticaseína (TSB) en tubos de ensayo, se inoculó, homogenizó y fueron incubadas, para el aislamiento selectivo, se utilizó agar MacConkey con Sorbitol, este fue inoculado con las muestras previamente enriquecidas con las técnicas de transferencia aséptica y cultivo en estrías, en el proceso de purificación de colonias se seleccionaron las muestras que cumplían los requisitos de coloración el cual es un rosa característico, provocado por la de fermentación de lactosa, lo que se asocia a enterobacterias, de 50 muestras 11 pertenecientes a pollos y 5 de piso cumplieron los requisitos y se empleó agar nutritivo, en este se usaron las mismas técnicas de siembra que en el agar anterior para inocularlo, con las colonias obtenidas se hizo el procedimiento de tinción Gram, a través de la observación con microscopio se confirmó la presencia de bacterias gram negativas, se realizaron las pruebas bioquímicas de Microgen, y su software Microgen ID reveló que 5 de las muestras provenientes de pollos y 2 de piso poseían la bacteria *Escherichia coli*, con estas muestras se pudo realizar las pruebas de sensibilidad, con la utilización de agar Mueller Hinton y la técnica de Bauer & Kirby. Los resultados obtenidos mostraron crecimiento de colonias en los halos de inhibición, siendo un indicativo de poblaciones resistentes de *E. coli* originarias de las muestras estudiadas: Amoxicilina 100% (resistente), Cefalexina 57% (resistente), 43% (intermedio), Ciprofloxacina 43% (resistente), 14% (Intermedio), 43% (Sensible), Enrofloxacin 14% (resistente), 72% (intermedio), 14% (sensible), Florfenicol 86% (resistente), 14% (Sensible), Fosfomicina 57% (resistente), 14% (intermedio), 29 % (sensible), Gentamicina 43 % resistente 28% (intermedio), 29% (sensible), Norfloxacina 29% (resistente) 71% (Intermedio), Penicilina G 100% (resistente) Sulf+Trimetroprim 86 % (resistente), 14% (intermedio), Tetraciclina 100% (resistente).

Palabras clave: Pollos broiler, *Escherichia coli*, Resistencia a los antibióticos.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: "ISOLATION AND STUDY OF RESISTANCE TO ANTIBIOTICS IN STRAINS OF *Escherichia coli* IN ISOLATED EXCREMENTS IN BROILER CHICKENS FROM POALO FARMS OF LATACUNGA CANTON."

AUTHOR: Juma Carcelén Erick Sebastian

ABSTRACT

The study of the sensitivity of bacteria to antibiotics has become an important tool in recent years; it is essential to determine their resistance and evaluate the effectiveness of the treatments that will be used to combat them. This research project assumed the objective of analyzing the resistance to antibacterial (AMR) of the bacterium *Escherichia Coli* from broiler chickens from Poaló hatcheries. For the research work 50 samples were collected in total, of which 40 were sewage and 10 were taken directly from the droppings present in the soil, were marked and preserved in Stuart means of transport, the ISO 16654: 2001 method was used, in the enrichment process soybean broth with Trypticasein (TSB) was used in test tubes, was inoculated, homogenized and incubated, for selective isolation, MacConkey agar was used with Sorbitol, this was inoculated with the samples previously enriched with the techniques of aseptic transfer and culture in stretch marks, in the process of purification of colonies the samples that met the coloration requirements were selected which is a characteristic rose, caused by the fermentation of lactose, which is associated with enterobacteria, of 50 samples 11 belonging to chickens and 5 floor met the requirements and nutritional agar was used, in this the same planting techniques were used as in the previous agar to inoculate it, with the colonies obtained the Gram staining procedure was done, through the observation with microscope the presence of gram-negative bacteria was confirmed, Microgen biochemical tests were performed, and its Microgen ID software revealed that 5 of the samples from chickens and 2 from the floor had the bacterium *Escherichia coli*, with these samples the sensitivity tests could be performed, with the use of Mueller Hinton agar and the Bauer & Kirby technique. The results obtained showed colony growth in the inhibition halos, being an indication of resistant populations of *E. coli* originating from the samples studied: Amoxicillin 100% (resistant), Cephalexin 57% (resistant), 43% (intermediate), Ciprofloxacin 43% (resistant), 14% (Intermediate), 43% (Sensitive), Enrofloxacin 14% (resistant), 72% (intermediate), 14% (sensitive), Florfenicol 86% (resistant), 14% (Sensitive), Fosfomicin 57% (resistant), 14% (intermediate), 29 % (sensitive), Gentamicin 43 % resistant 28% (intermediate), 29% (sensitive), Norfloxacin 29% (resistant) 71% (Intermediate), Penicillin G 100% (resistant) Sulf+Trimetoprim 86 % (resistant), 14% (intermediate), Tetracycline 100% (resistant).

Keywords: Broiler chickens, *Escherichia coli*, Antibiotic resistance.

3.- JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La intención del presente proyecto es demostrar la presencia de cepas de *E. coli* resistentes en pollos broiler de los criaderos de la parroquia Poaló del cantón Latacunga, de tal manera que se puedan explicar, las fuentes de infección, sus mecanismos de transmisión y adaptabilidad, con el fin de que se tenga un registro de la presencia de dicha bacteria en la zona de estudio.

La información expuesta puede beneficiar a la comunidad en general, también a pequeños y grandes productores, puesto que la presencia esta bacteria llega a provocar infecciones masivas por las condiciones de hacinamiento en las que muchas veces se maneja en los galpones de cría, causando una gran pérdida económica, teniendo una probabilidad de muerte elevada en aves contagiadas.

El tema de investigación adquiere relevancia porque *E. coli* es una de las bacterias más comunes en el medio ambiente, siendo frecuente la contaminación de productos y agua por distintas vías y factores, sus cepas patógenas provocan infecciones de tipo entérica, con síntomas como la diarrea, vómitos o fiebre, incluso llegan a provocar un daño considerable a la mucosa intestinal, siendo un riesgo latamente para niños, adultos y personas de la tercera edad.

Por las razones expuestas es importe analizar y estudiar la sensibilidad que presentan las bacterias a diferentes antibióticos para desarrollar tratamientos efectivos tanto para la industria de producción de alimentos como para la medicina humana.

4.- BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1- Beneficiarios directos

- Consumidores: Personas y familias que adquieren los productos de estas zonas, o que no conocen los medios de contaminación de la bacteria.
- Productores de la zona de estudio: Tendrán constancia de la presencia de cepas resistentes de la bacteria, que pueda afectar el nivel de producción.

4.2.- Beneficiarios indirectos

- Medios de distribución de alimentos: Estos tendrán en cuenta los posibles medios de contaminación, asegurando un producto seguro a la sociedad.
- Productores de otras zonas: Consideraran la posibilidad de la existencia de cepas resistentes en sus galpones de cría.

5.- PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

Escherichia coli es una de las enterobacterias más comunes tanto en el medio ambiente como en el microbiota intestinal, sus variantes patógenas son oportunistas, esta bacteria está presente en aves destinadas a consumo, volviéndose un reservorio significativo, ya que, durante la fase de faenamiento, los residuos fecales pueden contaminar todo el producto, siendo una posible fuente de contagio zoonótico (1).

Según datos de los Censos Avícolas, Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE), la carne con más relevancia después de la porcina, es la aviar, en el 2021 su consumo per cápita fue de aproximadamente 27,72 kg al año y una producción de 255 millones de pollos destinados para el consumo (2).

Las enfermedades que afectan al sector avícola poseen una influencia significativa sobre los parámetros productivos o zootécnicos, representando importantes pérdidas económicas por factores decisivos como la mortalidad, retrasos del crecimiento, costos de tratamientos, alterando la calidad del producto final, impidiendo su comercialización, algunas enfermedades no son causa directa de alteración de parámetros productivos, pero si factores predisponentes para el desarrollo de otras que los lleguen a alterar (3).

La enfermedad más común en estos animales es la colibacilosis aviar, convirtiéndose en una de las principales causas de mortalidad y pérdidas económicas en las granjas avícolas las condiciones y el ambiente dónde se encuentran los animales pueden volverse propicias para que la enfermedad se "retroalimente", llegando a afectar a galpones enteros (4).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), uno de los problemas causados por presencia de la *Escherichia coli* en productos alimenticios y el agua de consumo masivo son la constante aparición de las enfermedades relacionadas con la bacteria, generalmente en países en vías de desarrollo (5).

En el Ecuador hay varias investigaciones sobre la presencia de *Escherichia coli* en diferentes alimentos y platos populares que no han resultado en efectos negativos, por tal razón existe nula importancia por parte de autoridades y personas ya que no cumplen normativas sanitarias para garantizar la correcta manipulación de alimentos para evitar las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) que están ocasionando, por otro lado la falta de técnicas y el poco interés que suscitan un problema aun mayor (6).

Esta bacteria presenta gran resistencia y adaptabilidad, provocando mecanismos de adaptación microbiana por la presión selectiva que representa la utilización de antibióticos a gran escala, esto nos deja prácticamente sin alternativas porque pone en riesgo la eficacia de la prevención y tratamiento de las enfermedades que provoca, haciendo que las infecciones persistan, incrementando su propagación, volviéndose así en un problema serio para la salud pública (7).

Es capaz de producir endotoxinas que son liberadas cuando muere, dado el caso que lleguen a la sangre producen una respuesta sistémica con un desenlace fatal de shock endotóxico a parte posee fimbrias, que cumplen un papel esencial en el anclaje de la bacteria, causando una adhesión muy fuerte, por consecuencia es difícil eliminarlas del organismo (8).

Por cálculos aproximados de la OMS, las enfermedades diarreicas causadas por transmisión alimentaria, con 550 millones de personas que enferman y 230.000 que mueren cada año, los niños corren un riesgo, de 220 millones que enferman, 96.000 llegan a morir cada año, causados por diferentes bacterias, entre ellos *E. coli* (9).

Los grupos de bacterias resistentes tienen un gran impacto en la salud pública mundial, pues en el año 2019 fallecieron cerca de 1,2 millones de personas en todo el planeta por infecciones causadas por estos microorganismos (10).

6.- OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar la resistencia a los antibióticos en cepas de *Escherichia coli* en aislados de deyecciones e hisopados cloacales en pollos broiler de los criaderos de Poaló del cantón Latacunga.

6.2 Objetivos Específicos

- Ejecutar el procedimiento según ISO 16654: 2001 de cultivo que asegure el crecimiento y desarrollo de la enterobacteria *Escherichia coli*.
- Identificar la presencia de *E. coli* de las muestras obtenidas mediante la confirmación con pruebas bioquímicas de Microgen y su software Microgen ID.
- Analizar la resistencia a los antibióticos con la utilización de discos de sensibilidad.

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

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

Objetivo 1	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Ejecutar el procedimiento según ISO 16654: 2001 de cultivo que aseguren el crecimiento y desarrollo de la enterobacteria <i>Escherichia coli</i> .	Usar materiales y métodos específicos para asegurar la supervivencia de las bacterias obtenidas de las muestras.	Obtención de caldos nutritivos y agares aptos para el cultivo de bacterias provenientes de las diferentes muestras.	Fotografías, pruebas y análisis de laboratorio.
Objetivo 2	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Identificar la presencia de <i>E. coli</i> de las muestras obtenidas mediante la confirmación con pruebas bioquímicas de Microgen, su software Microgen ID.	Análisis técnico y de laboratorio de las muestras, para confirmar la presencia de la bacteria en las muestras y posteriormente verificar su sensibilidad.	Confirmación de muestras positivas para <i>E. coli</i> , con las cuales se pudo realizar las pruebas de sensibilidad antibiótica.	Fotografías, pruebas y análisis de laboratorio.
Objetivo 3	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Analizar la resistencia a los antibióticos con la utilización de discos de sensibilidad.	Una vez confirmada la presencia de la bacteria de interés <i>E. coli</i> , se colocarán de los discos de sensibilidad de manera adecuada para evaluar la sensibilidad de dichas colonias.	Se confirmó la presencia de colonias resistentes provenientes de las muestras.	Fotografías, registros de la medición de los halos inhibitorios.

Elaborado por: Sebastian Juma

8.- FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICO

8.1.- Información relevante sobre *E. coli*

La bacteria fue descubierta en 1885 por el Doctor alemán Theodor Escherich, la aisló y describió en muestras provenientes de las deposiciones de niños, dándole en un principio el nombre de *Bacterium coli commune* (bacteria común del colon), ya desde los años 1900 se la utilizado como indicador de contaminación fecal en el agua o alimentos, por su importancia e impacto en 1912 es nombrada como *Escherichia coli* en honor a su descubridor (11).

Esta bacteria es un habitante común en el organismo de personas y animales sanos, sus cepas inocuas son indispensables para el correcto funcionamiento de los procesos digestivos, es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo, móvil ya que posee flagelos periféricos, no forma esporas y es capaz de fermentar glucosa y lactosa (12).

Es una de las primeras bacterias que llegan a conformar la microflora intestinal (MFI) después del nacimiento, tanto su composición como sus funciones se ven influenciadas por factores externos o la nutrición, esta microflora se asocia con varios efectos benéficos en el huésped, como la maduración e integridad del epitelio intestinal, protección contra patógenos y equilibrio inmunológico intestinal, manteniendo una relación de simbiosis (13).

La MFI posee un efecto protector ante los agentes patógenos, presentando resistencia a la colonización o sobrecrecimiento de patógenos y estimulación del sistema inmune tanto a nivel local como sistémico (14).

Considerando que tanto humanos como animales mantienen contacto con microorganismos en el medio ambiente, la composición de la MFI se mantiene estable, pero su equilibrio puede verse afectado por factores como la edad, uso de antibióticos, antiácidos, la edad, una cantidad significativa de inóculo bacteriano en la dieta, el estrés o estados de inmunosupresión (15).

Conocer su composición, distribución y las acciones que cumple para mantener el equilibrio en el ecosistema gastrointestinal, resulta esencial para comprender su participación en la prevención y tratamiento de trastornos gastrointestinales (16).

8.2- Clasificación taxonómica

Tabla 2. Categoría taxonómica de *Escherichia coli*

Categoría taxonómica de <i>Escherichia coli</i>	
Dominio	<i>Bacteria.</i>
Reino	<i>Bacteria.</i>
Filo	<i>Proteobacteria.</i>
Clase	<i>Gamma proteobacteria.</i>
Orden	<i>Enterobacteriales.</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae.</i>
Género	<i>Escherichia.</i>
Especie	<i>Escherichia coli.</i>

Fuente: Dr. Méndez A.

8.2.1.- Cepas de *E. coli*

Las cepas patógenas se agrupan en diferentes categorías, donde cada una posee características y mecanismos de virulencia determinados que actúan conjuntamente para potenciar su patogenicidad, produciendo infecciones y síndromes diferentes, estos grupos son los siguientes (17, 18, 19):

- ***E. coli* enteropatogénico (ECEP):** Causan una lesión por adhesión, destrucción de las microvellosidades de los enterocitos, en el hombre son las causantes de diarrea líquida con mucosidad acompañada de vómitos, fiebre y la secreción de alguna enterotoxina es una de las principales causas de diarrea infantil.
- ***E. coli* verotoxigénico (ECVT):** Este grupo causan patologías muy serias en el humano, su nombre se debe a que estas se caracterizan por la producción de las verotoxinas.
- ***E. coli* enterotoxigénico (ECET):** Junto con las variantes de ECEP provocan la diarrea del viajero o de origen alimentario, es habitual en países poco

desarrollados, es capaz de adherirse a la mucosa del intestino delgado, pero no llega a invadirlo, dónde produce liberación de enterotoxinas, causando distensión abdominal conjuntamente con una diarrea líquida profusa, sin sangre ni material purulento y ausencia de fiebre.

- ***E. coli* enteroinvasivo (ECEI):** Se asocia esencialmente con brotes de origen alimentario, este invade el epitelio del colon, se multiplica en forma intracelular generando una respuesta inflamatoria alterando la forma epitelial, causando muerte celular y formación de úlceras microscópicas, sin producir toxinas, provoca diarrea acuosa con presencia de sangre y mucosidad acompañado de fiebre y dolor abdominal.
- ***E. coli* entero agregativo (ECEA):** Causa brotes o casos aislados de diarrea persistente, se adhiere a la mucosa del intestino, provocando un aumento de la secreción de mucus que atrapa a las bacterias, para su autoaglutinación en el epitelio, tiene efecto citopático sobre la mucosa intestinal, destruyendo las puntas vellosas, causando una respuesta inflamatoria leve, posteriormente estas bacterias liberan la enterotoxina, que causa lesiones histopatológicas.
- ***E. coli* enteroagregativa difusa (ECEAD):** Las bacterias se observan dispersas sobre la superficie celular con poca agregación, se le ha encontrado en niños con 1 y 5 años de edad, su infección se manifiesta con diarrea acuosa sin sangre, en el moco fecal no se detecta leucocitos.
- ***E. coli* enterohemorrágica (EHEC):** Se caracteriza por diarrea con colitis hemorrágica con vinculación al síndrome urémico hemolítico, es uno de los patógenos más frecuentes en los casos de diarrea con sangre, el principal reservorio es la carne contaminada, la transmisión por agua, alimentos y de persona a persona.

8.3.- Fases de contaminación hacia los alimentos

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 (20).

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 (21):

- El agua de irrigación contaminada con residuos de granjas de animales, así como de aguas del alcantarillado.
- Uso de fertilizantes orgánicos de origen animal para los sembríos.
- Contacto directo de animales con el producto vegetal fresco o cuando está en periodo de crecimiento 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 contaminada, junto con las deficientes prácticas de manejo higiénico de los productos.

8.4.- Mecanismos de resistencia y adaptación.

La resistencia antibiótica se ha convertido en un serio problema a nivel mundial, siendo un factor presente en diversas bacterias, *Escherichia coli*, presenta alta resistencia a varios antibióticos, estos procesos de resistencia se deben, a la adquisición de diferentes mecanismos moleculares mediante una serie de mutaciones a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre especies relacionadas o diferentes, integrones (22).

Resistencias a los antibióticos

Esta resistencia se relaciona con la introducción de un antibiótico que constituye por sí el primer factor para la selección de cepas resistentes en un plazo variable de tiempo, porque su presencia es capaz de inducir mutaciones, que conllevan a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética, el intercambio de material genético, a través de mecanismos como (23):

- **Transformación:** Transmisión o incorporación por una bacteria de ADN libre extracelular originario de la lisis de otras bacterias.
- **Transducción:** Transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago como intermediario (virus que infecta bacterias).
- **Transposición:** Movimiento de una sección de ADN que contiene genes para la resistencia de antibióticos y otros genes unidos en equipo para la expresión de un promotor en específico.
- **Conjugación:** Intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), mediante una hebra sexual o cuando llegan a tener contacto físico.

Durante el paso del tiempo varios grupos de bacterias han desarrollado mecanismos de adaptación interesantes, que les han permitido sobrevivir a los efectos antimicrobianos de diferentes antibióticos, dichos mecanismos son (24):

- El microorganismo presenta la característica de producir enzimas capaces de modificar o destruir al antibiótico.
- Son capaces de evitar la acumulación del antibiótico en el interior de la célula, disminuyendo su paso a través de la membrana celular.
- Variaciones bacterianas que causan modificaciones en las moléculas diana de los antibióticos.

Importancia de los integrones y otros elementos genéticos en la resistencia bacteriana.

Los integrones son estructuras que interactúan con diferentes elementos genéticos lo que altera directamente un sin número de factores, relacionados directamente acción bactericida de cualquier medicamento, estos genes de resistencia pueden ser capturados por bacterias que poseen integrones y así podrán expresar sus genes de resistencia por esta razón se deben hacer constantemente supervisiones de la sensibilidad de las bacterias como parte fundamental de la política de su control (25).

En la actualidad se conocen tres clases de integrones que tienen un rol en la disseminación de genes de resistencia, siendo los integrones clase 1 y 2 son más frecuentes en bacterias aisladas desde animales de consumo, aves domésticas y silvestres, actualmente, se conocen nueve clases de integrones (26)

- Los de la clase 1, 2, 3 y 9, contienen genes de resistencia a antibióticos.
- Los de las clases 4, 5, 6 y 7 no los tienen, la clasificación de los integrones se basa en la secuencia de la integrasa.

La integrasa es la encargada de facilitar los procesos de transcripción de ADN viral en la célula huésped, es así que se consigue alterar la programación de la célula para que fabrique partículas virales (27).

Los plásmidos son los responsables de transmitir a las a las bacterias propiedades que complementan su capacidad de adaptación y colonización, favoreciendo el intercambio genético intracelular, garantiza una diseminación horizontal de genes de resistencia a antibióticos, y de otras funciones, entre géneros distintos de bacterias (28).

Los transposones, son fragmentos de DNA que tienen la característica de moverse de localización genética (donador a receptor) facilitando la transferencia de los mecanismos de resistencia, por tal razón se los conoce como “genoma flotante”, teniendo un papel fundamental en la dispersión de la resistencia y en la movilización de los integrones (29).

Mecanismos de adaptación de *Escherichia coli* para sobrevivir en el medio.

Es capaz de entrar a una fase de crecimiento nulo (fase estacionaria), cuando se agotan los sustentos en el medio, reduce su volumen celular (forma redondeada), engrosa su pared, disminuye sus flagelos y aumenta su resistencia celular, su metabolismo se modifica acumulando varios compuestos de reserva y osmoprotección, por último, las fases del crecimiento se ven disminuidos, aumentando sus posibilidades de supervivencia, hasta que el medio posea las condiciones adecuadas (30).

8.5.-Estrategias de control

Industria

Para prevenir la infección se deben aplicar medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, que inicia desde la producción agropecuaria en la granja hasta la elaboración, fabricación y preparación de los alimentos, el número de casos de la enfermedad podría reducirse, pero no se garantiza la ausencia total de los microorganismos (31).

La reducción de contaminación fecal a lo largo de la cadena alimentaria es un factor importante que puede ayudar con la reducción de riesgos de infecciones a la salud asociados a *E. coli*, en los criaderos pueden adoptarse medidas de control relacionadas con la contaminación del agua, ya que es una de las principales fuentes de contagio (32).

Hogares

Según la OMS “las medidas de prevención son las prácticas básicas de buena higiene de los alimentos, pueden prevenir la transmisión de los agentes patógenos responsables de muchas enfermedades transmitidas por los alimentos”, se recomienda lavarse bien las manos con agua corriente y jabón, preparar la carne a una temperatura adecuada, prevenir la contaminación cruzada limpiando adecuadamente los utensilios (33).

8.6.- Antibióticos

Son medicamentos usados para combatir las infecciones provocadas por bacterias, en humanos y animales, ya sea matándolas o interfiriendo en sus procesos de crecimiento y multiplicación, sin embargo, se suelen usar de manera innecesaria contribuyendo a la resistencia a los antibióticos, por tal razón es de suma importancia administrarlos y usarlos adecuadamente (34).

Tabla 3.- Grupos antibióticos de interés para el proyecto de investigación y sus efectos (35).

Grupo antibiótico		Antibiótico	Modo de acción
Aminoglucósidos		Gentamicina	Son capaces de unirse a los ribosomas bacterianos (30S), provocando la producción de proteínas bacterianas defectuosas, o la inhibición total de la síntesis proteica de la bacteria, incluso alteran la permeabilidad de membrana externa (dependientes de oxígeno)
Resistencias		Puede ocurrir por mutación, se asocia a la producción, por la intervención de plásmidos o transposones, de enzimas inactivadoras.	
Betalactámicos	Penicilinas	Penicilina G	Son bactericidas que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, produce la
		Amoxicilina	

	Cefalosporinas	Cefalexina	activación de enzimas autolíticas que provocan su destrucción, actúan siempre en la fase de reproducción celular.
Resistencias	La base principal es la producción de betalactamasas, las cuales llegan a romper el anillo betalactámico.		
Quinolonas	Ciprofloxacino	Son agentes bactericidas que actúan inhibiendo selectivamente la enzima ADN-girasa bacteriana, la cual es fundamental para la estructura tridimensional correcta del material genético.	
	Norfloxacina		
Resistencias	Por mutaciones cromosómicas en genes que codifican la topoisomerasa II y IV, también por la sobreexpresión de bombas de extracción de la quinolona, por la producción de proteínas que compiten con la quinolona por su unión con la topoisomerasa II codificadas por plásmidos y por la presencia de una enzima que acetila e inactiva a los antibióticos.		
Sulfonamidas	Sulfametoxazol+ trimetoprima	Son generalmente bacteriostáticas, son análogos del ácido paraaminobenzoico (PABA) y actúan inhibiendo la síntesis del ácido fólico de los organismos susceptibles.	
Resistencias	Por mutación cromosómica y transmisión de plásmidos, que determinan una sobreproducción de PABA, por una disminución de la permeabilidad de la bacteria para la sulfonamida o una alteración de la enzima "diana" (dihidropteroato sintetasa), causando menor afinidad para la sulfonamida.		
Tetraciclinas	Tetraciclina clorhidrato	Son bacteriostáticas a las concentraciones que alcanzan en los tejidos, interfieren la síntesis proteica de los microorganismos susceptibles, uniéndose a la subunidad 30S del ribosoma, e impiden la interacción de éste con el ARN.	
Resistencias	Producida por plásmidos causando disminución de la permeabilidad reduciendo la concentración de antibiótico en el interior de la bacteria, y con menor frecuencia la formación de proteínas que protegen el ribosoma y raramente a inactivación enzimática o a modificaciones de la enzima diana.		

Misceláneos	Fosfomicina	Bloquea la síntesis de los precursores del peptidoglicano, ejerciendo un efecto bactericida rápido sobre bacterias en fase de crecimiento.
Resistencias	Causada por mutaciones que interrumpen con los sistemas de transporte de la célula, también por la reducción de la permeabilidad y por la existencia de enzimas con la capacidad de modificar el medicamento, inactivándolo o reduciendo su capacidad antimicrobiana.	
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina	Este posee acción bactericida, actúa bloqueando la enzima bacteriana ADN-girasa, la cual es fundamental en la mayoría de procesos biológicos de la bacteria.
Resistencias	Se relaciona con las alteraciones en las enzimas diana, generando transformaciones espontáneas en los genes <i>gyrA</i> y <i>gyrB</i> que codifican las subunidades de la ADN-girasa, por último, se altera la impermeabilidad por disminución en la expresión de algún tipo de proteína de la membrana externa.	
Fenicoles	Florfenicol	Es bacteriostático y actúa inhibiendo la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, se une al ribosoma 50S, con lo cual inhibe la síntesis proteica bacteriana.
Resistencias	Se produce por la resistencia de bombas de flujo que se asocian con el gen <i>floR</i>	
Fuente: Obando P, Suárez M, Esparza J. Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos.		

CLSI (Committee for Clinical Laboratory Standards)

Es una organización sin fines de lucro, que tiene el fin de elaborar estándares que poseen una elevada calidad, para mejorar las prácticas de laboratorio clínico, los documentos que elaboran son preparados en consenso entre las partes involucradas que son los usuarios, fabricantes, universidades, institutos y entes reguladores, así mismo se busca que dichos documentos sean de fácil aplicación, de tal manera que se pueda fomentar su uso en los laboratorios clínicos (36).

Sensibilidad de los organismos (37):

- Sensible: La cepa de estudio puede ser tratada de manera adecuada con la dosis recomendada de antibiótico para el tipo de infección y la especie que lo produce.

- Intermedio: Incluye a cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones más elevadas, siempre que dichas dosis puedan ser aumentadas.
- Resistente: Las cepas en esta categoría no son inhibidas por las concentraciones por concentraciones séricas que se alcanzan a dosis habituales y la eficiencia clínica aun no ha sido confirmada.

Las normas ISO (International Organization for Standardization)

Pertencen a un conjunto de estándares de reconocimiento internacional, apoyadas en el consenso y relevantes para el mercado que respaldan la innovación y brindan soluciones a los desafíos globales, estos fueron creados con la tarea de ayudar a las empresas a establecer unos niveles de homogeneidad en relación con la gestión, prestación de servicios y desarrollo de productos en la industria (38).

9.- HIPÓTESIS

Se confirmó la hipótesis nula.

H1: Las muestras recogidas y los procesos de análisis demostraron la presencia de *E. coli* resistente de muestras provenientes de pollos broiler de los criaderos de Poaló.

10.- METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

10.1.-Ubicación

El proyecto de investigación empezó con la recolección de muestras en la parroquia de San José de Poaló, la cuál se encuentra ubicada al Oeste del Cantón Latacunga provincia del Cotopaxi, esta se halla entre las coordenadas 00°51 07" y 00°54 45" de latitud Sur y de acuerdo al meridiano de Quito está entre 00° 08 21" y 00°17 28" de longitud Oeste, tiene una extensión de 7536,22 ha, la cual representa un 5,44% del área total del cantón Latacunga, su altura promedio es de 3.560 msnm (39).

Figura 1. Ubicación del proyecto de investigación



Fuente: Google maps

10.1.2.- Enfoque

El presente proyecto de investigación tuvo un enfoque observacional, ya que se realizó la preparación del medio de cultivo para las bacterias con el fin de comprobar la existencia de la bacteria *E. coli* de las muestras recolectadas, para ver su crecimiento, desarrollo y cómo reaccionan sus colonias al ser expuestas a discos de sensibilidad con diferentes antibióticos.

Para realizar el presente proyecto de investigación se recurrió a diversas fuentes honestas como libros digitales, páginas web, tesis o proyectos de investigaciones relacionados con el fin de recaudar los datos necesarios que contribuyan con información necesaria sobre esta bacteria.

10.1.3.- Diseño experimental

Para esta investigación se seleccionaron a 40 individuos adultos, las muestras fueron tomadas directamente de la cloaca del animal, de igual forma se procedió a tomar 10 muestras del suelo, para ser almacenadas en medios de transporte Stuart, las cuales fueron sometidas al procedimiento ISO 16654: 2001, conjuntamente con la realización de pruebas de sensibilidad con los siguientes antibióticos: Amoxicilina, Cefalexina, Ciprofloxacina, Enrofloxacin, Florfenicol, Fosfomicina, Gentamicina, Norfloxacina, Penicilina, Sulf+Trimetropin y Tetraciclina, con el fin de comprobar la existencia de animales contagiados con cepas de *Escherichia coli* resistentes.

10.1.5.- Proceso de investigación

1.- Recolección

40 muestras fueron tomadas directamente de la cloaca de diferentes animales, de igual forma se recogieron 10 muestras de heces del suelo, todas estas fueron almacenadas en medios de transporte Stuart, fueron marcadas con la fecha, hora y fueron identificados (ejem: Pollo #1, Suelo #1).

Los medios de transporte Stuart poseen un medio semisólido que se usa para el transporte y conservación de muestras biológicas para su posterior cultivo, siendo útil para diversos microorganismos, no es nutritivo y contiene tioglicolato sódico el cual retrasa la

oxidación, el cloruro de calcio junto con el glicerofosfato sódico, actúan como un buen agente amortiguador y también mantienen el equilibrio osmótico en el medio (40).

A partir de esta parte todos los procesos fueron realizados en una cámara de flujo laminar, el cual es un dispositivo necesario para proteger la muestra de la contaminación, este usa un flujo de aire constante con una dirección y velocidad uniforme, reduciendo el riesgo de contaminación cruzada (41).

Tabla 4. Generalidades del manejo de los medios y agares.

Agar/medio	Recipiente	Cantidad	Esterilización	Tiempo de incubación	Temperatura
Caldo de soja TSB	Tubo de ensayo	9 ml	15 minutos 121°C	18-72 horas	35±2 °C
Agar MacConkey	Caja Petri	20 ml	15 minutos 121°C	24 horas	35±2 °C
Agar nutritivo	Caja Petri	20 ml	15 minutos 121°C	24 horas	35±2 °C
Agar Mueller Hinton	Caja Petri	20 ml	15 minutos 121°C	18 -24 horas	35±2 °C

2.- Nutrición de las bacterias

Se preparó caldo de Soja Trypticaseína (TSB) en tubos de ensayo previamente esterilizados, este es un medio muy rico en nutrientes para uso general en laboratorio de microbiología, permite el crecimiento abundante de las bacterias y este medio se utiliza con frecuencia en muchos procedimientos de investigación diagnóstica o microbiología y se utiliza para pruebas de aislamiento y sensibilidad de todos los tipos de patógenos (42).

Preparación: Suspender 30 gramos de TSB en un litro de agua destilada, mezclar bien y disolver con calor con agitación frecuente, hervir durante un minuto hasta que se disuelva por completo, finalmente dispensar en recipientes adecuados y esterilizar en autoclave.

Tabla 5. Fórmula aproximada por cada litro de TSB.

Fórmula aproximada por cada litro	
Digerido pancreático de caseína	17,0 g
Digerido papainico de soja	3,0 g
Cloruro sódico	5,0 g
Fosfato dipotásico	2,5 g
Dextrosa	2,5 g

Fuente: caldo de Soja Tripticaseína (TSB) 500 gr

Se colocó en los tubos de ensayo 9ml de TSB U, se inoculó el medio de forma directa, introduciendo los hisopos de las muestras recolectadas y se incubaron.

3.- Cultivo

Una vez transcurrido el tiempo, se usó Agar MacConkey II con sorbitol.

Este agar funciona como medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de Enterobacteriaceae y diversos otros bacilos gram negativos es ligeramente selectivo dado que la concentración de sales biliares, inhiben los microorganismos gram positivos, logrando una diferenciación más definitiva de los organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa y alcanzar un crecimiento superior de las bacterias entéricas (43).

Preparación: Hay que suspender 50 gramos del agar en un litro de agua destilada, asegurarse de mezclar bien, realizando agitación frecuente, se debe hervir durante un minuto hasta disolver completamente, hay que esterilizar y dejar enfriar.

Tabla 6. Fórmula aproximada por cada litro de agar MacConkey II con sorbitol

Fórmula aproximada por cada litro de agar MacConkey II	
Digerido pancreático de gelatina	17,0 g
Digerido pancreático de caseína	1,5 g
Digerido péptico de tejido animal	1,5 g
Sorbitol	10 g
Sales biliares	1,5 g
Cloruro sódico	5, 0 g
Rojo neutro	0,03 g
Cristal violeta	0, 001 g
Agar	13,5 g

Fuente: Agar MacConkey II con sorbitol 500 gr

Ya con el agar listo, se usó la técnica transferencia aseptica para inocular con un asa de siembra el agar, empleando la siembra en estría, se usó papel Parafilm para sellar las cajas Petri y finalmente se dejaron las muestras inoculadas en la incubadora.

Figura 2, Figura 3. Método de transferencia aseptica



Fuente: Sebastian Juma



Fuente: Sebastian Juma

Método de transferencia aseptica

El asa se calienta hasta la incandescencia y se enfría brevemente al aire, hay que destapar el tubo de la muestra para extraer una pequeña cantidad de la misma con el asa esterilizada y se traslada a un medio estéril en este caso el agar, finalmente se vuelve a calentar el asa antes de dejar de utilizarla (44).

Figura 4, figura 5. Técnica de siembra en estría



Fuente: "Brock, Biología de los microorganismos". Duodécima edición

Técnica de siembra en estría

Consiste en cargar el asa con la muestra y hacer estrías paralelas, abarcada la cuarta parte de la superficie en la caja Petri, se procede a esterilizar al asa en el fuego, se deja enfriar y se gira la caja 90°, volvemos a inocular el asa con la muestra y cubrimos la totalidad de la caja (45).

4.- Identificación

Las colonias aisladas de *Escherichia coli* se presentan con una coloración rojiza ladrillo y se encuentran rodeadas por una zona de bilis precipitada, el rojo neutro es el indicador de pH, cuando llegan a fermentar la lactosa, el pH del medio disminuye, cambiando el color de rojo neutro a un rosa característico. (46).

Figura 6: Colonias de *E. coli* en Agar MacConkey



Fuente: Sebastian Juma

5.- Purificación

Ya transcurrido el tiempo límite en agar MacConkey, se preparó Agar nutritivo, este un medio de uso general para el cultivo de una amplia variedad de organismos bacterianos, proporciona los nutrientes necesarios para la multiplicación de un amplio número de microorganismos que no son necesariamente exigentes (47).

Preparación: Suspender 23 gramos en un litro de agua destilada, mezclar bien y disolver calentando con agitación frecuente, hervir durante un minuto hasta disolver por completo y esterilizar.

Tabla 7. Fórmula aproximada por cada litro de agar Nutriente

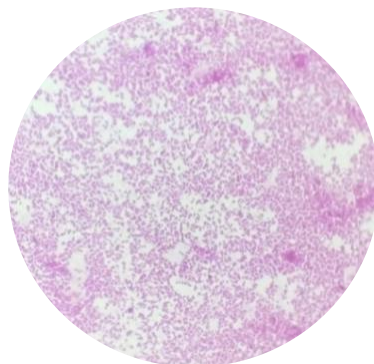
Fórmula aproximada por cada litro de agar Nutriente	
Extracto de res	3,0 g
Peptona	5, 0 g
Agar	15, 0 g

Fuente: Agar Nutriente 500 gr

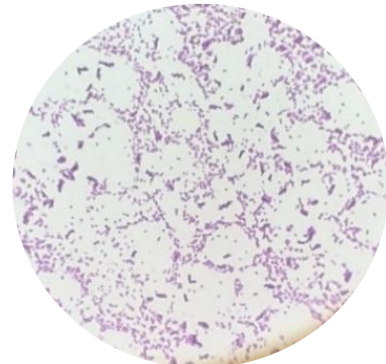
Procedimiento: Se inoculó directamente el asa de siembra con las colonias que se han desarrollado en el Agar MacConkey, usando el método de transferencia aséptica y se cultivó realizando la siembra en estría, se sella la caja Petri con papel Parafilm y se dejó incubando.

6.- Tinción Gram

Se usan una serie de reactivos que generarán una coloración que permitirá distinguir bacterias Gram positivas y Gram negativas que son cristal violeta, lugol, alcohol acetona, y safranina , mostrando una aproximación a la morfología de las bacterias, estos grupos de bacterias se tiñen de forma diferente por las diferencias constitutivas en la estructura de sus paredes celulares; en el caso de las Gram positivas la cantidad de peptidoglicano es del 80 al 90 % mientras que de las Gram negativas oscila entre el 10 y 20 % de la pared celular (48).

Figura 7: Bacterias Gram negativas

Fuente: Sebastian Juma

Figura 8: Bacterias Gram positivas

Fuente: Sebastian Juma

7.- Pruebas bioquímicas

En este caso se usaron las pruebas bioquímicas Microgen (49):

- Su sistema está basado en la utilización de 12 sustratos bioquímicos que se encuentran en los micropocillos para identificar la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gramnegativos no exigentes (oxidasa negativos y positivos)
- Los sustratos deshidratados en cada pocillo se reconstituyen con la utilización de una suspensión salina inoculada con el organismo que se desea identificar.
- Si los sustratos individuales son metabolizados por el organismo, se produce un cambio de coloración durante la fase de incubación o tras la adición de los reactivos específicos.

Figura 9. Tabla de referencia de sustratos

Pocillo	Reacción	Descripción	Positiva	Negativa
1	Lisina	La Lisina decarboxilasa – al azul de Bromotimol pasa de a verde/azul, indicando la producción de la amina cadaverina.	Verde / Azul	Amarillo
2	Omitina	La Omitina decarboxilasa – el azul de Bromotimol se mantiene azul indicando la producción de la amina putrescina.	Azul	Amarillo / Verde
3	H ₂ S	Producción de H ₂ S – el Tiosulfato se reduce a H ₂ S que reacciona con las sales de hierro produciendo un precipitado negro.	Marrón/ Negro	Color paja
4	Glucosa	Fermentación – el azul de Bromotimol cambia de azul a amarillo como resultado de la producción de ácido a partir de la fermentación de carbohidratos.	Amarillo	Azul / Verde
5	Manitol			
6	Xilosa			
7	ONPG	Hidrólisis – la hidrólisis de la ONPG por la B-galactosidasa da lugar a la producción de amarillo de orto-nitrofenol.	Amarillo	Incoloro
8	Indol	El indol se produce a partir de triptófano y da lugar a un complejo rosa / rojo cuando se añade el reactivo de Kovac's.	Rosa / Rojo	Incoloro
9	Ureasa	La hidrólisis de la urea da lugar a la formación de amoníaco que provoca un incremento de pH que hace virar el rojo de fenol de amarillo a rosa / rojo.	Rosa muy profundo	De color paja a rosa salmón pálido
10	VP	La producción de acetoina a partir de glucosa se detecta por la formación de un complejo rosa / rojo después de la adición de alfa naftol y creatina en presencia de KOH.	Rosa profundo / Rojo	Incoloro a rosa pálido
11	Citrato	La utilización de citrato (solo como fuente de carbono) da lugar a un incremento de pH que proporciona un cambio de color del azul de bromotimol de verde a azul.	Azul	Amarillo/ Verde pálido
12	TDA	El ácido Indolpirúvico se produce a partir de triptófano por la triptófano deaminasa dando un color rojo cereza cuando se añaden los iones de hierro. Los microorganismos indolo positivos pueden dar coloración marrón – en caso de resultado negativo.	Rojo cereza	Color paja

Fuente: Guía Microgen.

- Para interpretar los resultados se deben observar las reacciones y cambios de coloración en los pocillos, se anotan todas las reacciones con la ayuda de la carta de color, Añadir los reactivos apropiados a los siguientes micropocillos.

- 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
- Añadir 1 gota del reactivo VP I 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.
- 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.

Figura 10. Carta de color

Microgen™ GN A ID

WELL/APFCHEN / GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7
Reaction	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.	Nitrate
Negative	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Blue	Blue	White	Yellow	White	White	Yellow	Yellow	White
Positive	Blue	Blue	Black	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Red	Pink	Pink	Blue	Red	Red

Fuente: Guía Microgen.

- Las tiras Microgen GN-ID A nos dan un perfil numérico de 4 dígitos en total.
- Se procede a anotar en la hoja de resultados, ese perfil numérico se introduce en el Software Microgen Identification System (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectivo.

Figura 11. Ejemplo de Hoja de Resultados

MICROGEN GN-ID A+B PANEL REPORT FORM

Lab. No. 3341 Specimen Type CHEESE SANDWICH Date: 28th JANUARY 2002

Well Number	GN A wells												GN B wells																	
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatin	Mannose	Inositol	Sorbitol	Pharmiose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Sakine	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	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Profile No: 67600760 Final Identification: E. coli

WF6125/01/12

Fuente: Guía Microgen.

8.- Pruebas de sensibilidad

Estas pruebas se realizaron con las muestras que marcaron positivas para *E.coli*, fueron seleccionadas y cultivadas en Agar Mueller Hinton, es un medio con características de crecimiento adecuadas es esencial para probar la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos, también es apto para el desarrollo de las bacterias anaeróbicas aeróbicas y facultativas más comunes, proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento, y el almidón absorbe cualquier metabolito tóxico producido (50).

Preparación: Suspender 37 g del polvo en 1 litro de agua purificada., luego se deja reposar 10 a 15 minutos, luego se debe calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto para disolución total, se debe esterilizar, luego se deja enfriar y distribuyen en cajas Petri estériles (51).

Tabla 8. Fórmula aproximada por cada litro de agar Mueller Hinton.

Fórmula aproximada por cada litro de agar Mueller Hinton.	
Extracto de carne bovina	2,0 g
Hidrolizado ácido de caseína	17,5 g
Almidón	1,5 g
Agar	17,0 g

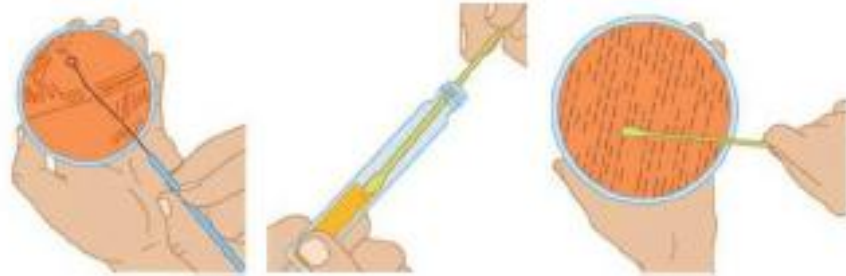
Fuente: Agar Mueller Hinton. 500 gr

Ya que se haya solidificado en se usará la técnica de dilución para inocular el agar.

Técnica de dilución

Se hace homogenizando colonias aisladas puras en un tubo con un medio líquido apropiado hasta alcanzar un nivel de turbidez, se moja un hisopo de algodón estéril en la suspensión bacteriana, y se procede a hacer estrías uniformemente en la superficie del agar (52).

Figura 12. técnica de dilusión



Fuente: “Brock, Biología de los microorganismos”. Duodécima edición.

8.1.- Colocación de discos de sensibilidad

Se preparó un total de tres cajas Petri por muestra, después de la inoculación del agar, se esperó 15 minutos, luego se colocó sobre su superficie discos que contienen concentraciones marcadas de diferentes antibióticos, y fueron dispuestos de la siguiente manera, en dos cajas Petri se colocaron cuatro discos de sensibilidad respectivamente y en una caja tres discos, para completar la lista de los once antibióticos que se usó, se sellaron las cajas Petri con Parafilm y se dejaron en la incubadora durante 18 horas, a una temperatura de 35° C después de la incubación, se observó y midió las zonas de inhibición, con estos datos, se establecen las categorías de sensibilidad del microorganismo por referencia a una carta interpretativa de los tamaños de los halos.

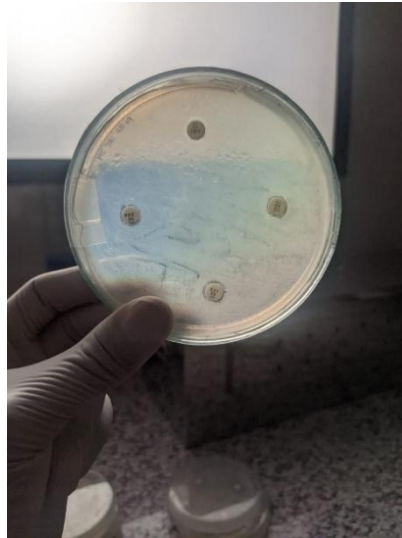
Técnica de Kirby Bauer

Esta técnica para efectuar pruebas de sensibilidad es cualitativa, los resultados obtenidos se pueden interpretar únicamente como sensible, intermedio o resistente y fue diseñada específicamente para bacterias que presentan un crecimiento rápido como las pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, y los pasos para realizarlos son los siguientes (53):

- Cada caja Petri se observa en una luz indirecta y cada halo de inhibición es medido utilizando un calibrador, en caso de no presentar un halo, no se registra como 0mm sino como 6mm el cual es el diámetro del disco.

- La interpretación de los diámetros de los halos se basa en las guías publicadas por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) y se marcan como sensible, intermedio o resistente al antibiótico testado.

Figura 13: Colocación de discos de sensibilidad



Fuente: Sebastian Juma

Tabla 9. Estándares de sensibilidad antimicrobiana mediante medición del diámetro de halo determinado por el Clinical and Laboratory Standards Institute.

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

Los estándares se definen y actualizan por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) (54).

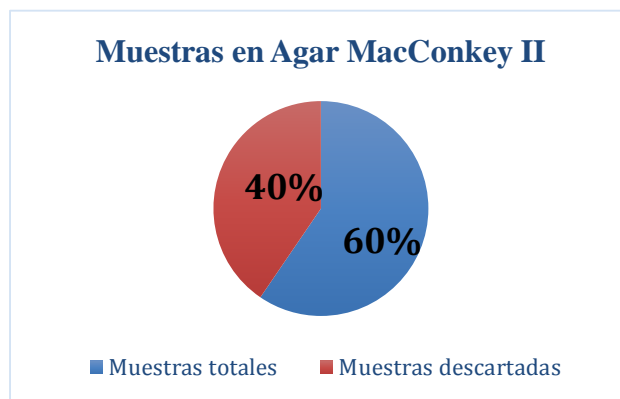
11.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

11.1 Muestras descartadas en Agar MacConkey.

De las 50 muestras totales se descartaron 29 pertenecientes a pollos y 5 de piso, ya que después del periodo de incubación, el agar y las colonias no cumplían las características de coloración o apariencia que son típicas de la bacteria de interés y que ya fueron descritas anteriormente, dejando un total de 16 muestras para continuar la investigación.

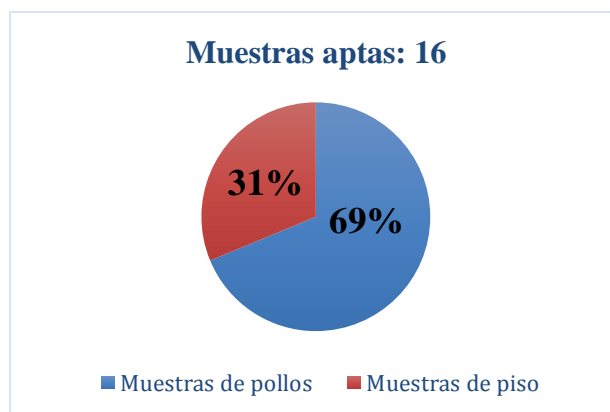
Por datos del fabricante del agar se sabe que las colonias fermentadoras de lactosa presentan una coloración rosadas-rojizas junto con un halo de precipitación biliar, mientras las que no lo fermentan se presentan incoloras o del color del medio, siendo esto uno de los datos más importante para la selección de colonias.

Figura 14. Porcentaje de muestras descartadas en Agar MacConkey.



De las 16 muestras seleccionadas, 11 fueron procedentes de pollos y 5 del piso, con las cuales ya se pudieron realizar las pruebas bioquímicas de Microgen.

Figura 15. Muestras aptas en Agar MacConkey.



11.2 Resultados de las pruebas bioquímicas MicroGen.

Luego de haber agregado los reactivos restantes y haber analizado los resultados con las especificaciones del manual, se obtuvo el código de cada muestra, para ser ingresados en el software (Microgen ID), la información obtenida se muestra en la tabla 8.

Tabla 10. Resultados de las pruebas bioquímicas Microgen.

Muestras	Reactivos												COD
	LYS	ORN	H2S	GLU	MAN	XYL	ONP	IND	UR	VP	CIT	TDA	
Pollo 1	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	6764
Pollo 12	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	6766
Pollo 14	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	7744
Pollo 15	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
Pollo 16	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
Pollo 17	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
Pollo 24	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	5766
Pollo 25	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	6166
Pollo 29	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	6762
Pollo 32	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	6742
Pollo 39	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
Piso 6	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	6466
Piso 7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	7766
Piso 8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	7764
Piso 9	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
Piso 10	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	7666

Fuente: Sebastian Juma, Laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Tras haber ingresado todos los códigos numéricos en el software, este reveló que las muestras provenientes de Pollo # 15, 16, 17, 29, 39 y Piso #9 una probabilidad de 97.11%, mientras que la muestra de Piso # 8, una probabilidad de 75.81% para *Escherichia coli*, por otro lado, el resto de muestras evidenciaron la presencia de otras enterobacterias.

Como menciona Guamán en cambios en la microbiota intestinal de las aves y sus implicaciones prácticas, su composición en el pollo no es estática, este presentará varios cambios en las diferentes etapas de su vida, presentando diferentes especies de bacterias en tractos del sistema digestivo o diferentes órganos, estas poblaciones mantienen un equilibrio, pero en casos de inmunosupresión se pueden volver dañinas para el organismo causando enfermedades (55).

Algunas de esas colonias son las que se muestran en la figura 14.

Figura 16. Resultados de Microgen ID.

Test System	Octal Code	Identification	Likelihood	Probability	Percent Probability	Date	Lab Ref.	Name
MID12T	5766	K. oxytoca	0,01%	1/11.581	98,56%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 24
MID12T	6766	S. liquefaciens	1,01%	1/147	80,26%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 12
MID12T	6760	E. coli	100%	1/2	97,11%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 16
MID12T	6760	E. coli	100%	1/2	97,11%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 17
MID12T	6764	S. liquefaciens	0,11%	1/1.327	36,25%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 1
MID12T	6760	E. coli	100%	1/2	97,11%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 15
MID12T	6742	S. liquefaciens	7,53%	1/20	53,9%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 32
MID12T	6166	S. liquefaciens	<0.01%	< 1/100,...	44,28%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 25
MID12T	6762	E. coli	1,01%	1/160	84,29%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 29
MID12T	6760	E. coli	100%	1/2	97,11%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 9
MID12T	6760	E. coli	100%	1/2	97,11%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 39
MID12T	7666	S. marcescens	<0.01%	1/143.181	99,48%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 10
MID12T	7764	E. coli	<0.01%	1/160.148	75,81%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 8
MID12T	6466	S. marcescens	0,01%	1/14.189	99,94%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 6
MID12T	7766	S. Arizonae	<0.01%	1/57.441	66,73%	15/08/2022	UTC microbiología	Piso 7
MID12T	7744	H. alvei	0,1%	1/1.598	81,55%	15/08/2022	UTC microbiología	Pollo 14

Fuente: Microgen ID. Ver 1.2, Laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

11.2.1 Pruebas de sensibilidad

El tamaño de los halos nos ayuda a interpretar la respuesta obtenida por la bacteria *Escherichia coli* hacia los antimicrobianos (56). La tabla 9 muestra los halos medidos en cada una de las muestras, se considera el estándar de sensibilidad en base al diámetro del halo consecuente al antibiótico para determinar si la muestra es sensible, intermedio y resistente. Según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (tabla7.) cada medicamento tiene diferente interpretación conforme la medición del halo.

Tabla 11. Halos de inhibición de las diferentes muestras.

Antibióticos			CONS	Pollo 15	Pollo 16	Pollo 17	Pollo 29	Pollo 39	Piso 8	Piso 9
1	Amoxicilina	AML	10	6mm	6mm	6mm	6mm	7.00mm	6mm	6mm
2	Cefalexina	CL	10	6mm	6mm	16.30mm	9.00mm	6mm	6mm	6mm
3	Ciprofloxacina	CIP	5	14.76mm	25.60mm	32.50mm	33.09mm	20.81mm	6mm	6mm
4	Enrofloxacin	ENR	5	16.88mm	14.41mm	17.62mm	25.68mm	15.14mm	6mm	6mm
5	Florfenicol	FFC	30	6mm	6mm	8.22mm	6mm	6mm	6mm	6mm
6	Fosfomicina	FOS	50	25.57mm	24.81mm	6.64mm	13.16mm	12.61 mm	15.30mm	17.80mm
7	Gentamicina	CN	10	6mm	8mm	20.50mm	6mm	6mm	19.26mm	6mm
8	Norfloxacina	NOR	10	19.15mm	21.02mm	10.69mm	24.40 mm	24.58mm	6mm	6mm
9	Penicilina G	P	10	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm
10	Sulf+Trimetoprim	SxT	25	6mm	17.28mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm
11	Tetraciclina	TE	30	6mm	6mm	8.34mm	5.87mm	6mm	6mm	6mm

Elaborado por: Sebastian Juma. Laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Para comprender los resultados de los halos se analizó con los estándares del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (CLSI). En la tabla 10 se evidencia que los antibióticos Amoxicilina, Tetraciclina y Penicilina G poseen una resistencia en el 100% de sus muestras, mientras que en el resto de las pruebas mantienen una variabilidad entre resistente, resistencia intermedia y sensible al antibiótico. En el estudio de Betrán y Lavilla evidencian una resistencia del 20% para penicilina y mencionan que tuvieron una menor actividad para amoxicilina revelando una resistencia mediana superior del 50%, no obstante, se debe mencionar que ellos muestrearon el 42% de 42 mil muestras obtenidas en intervalos de tres años (57).

Tabla 12. Determinación de la sensibilidad de muestras.

Antibióticos			CONS	Pollo 15	Pollo 16	Pollo 17	Pollo 29	Pollo 39	Piso 8	Piso 9
1	Amoxicilina	AML	10	R	R	R	R	R	R	R
2	Cefalexina	CL	10	I	R	I	R	R	R	I
3	Ciprofloxacina	CIP	5	R	S	S	S	I	R	R
4	Enrofloxacina	ENR	5	I	I	I	S	I	R	I
5	Florfenicol	FFC	30	R	R	R	R	R	S	R
6	Fosfomicina	FOS	50	S	I	R	R	R	R	S
7	Gentamicina	CN	10	S	R	I	R	R	I	S
8	Norfloxacina	NOR	10	I	I	R	I	I	R	I
9	Penicilina G	P	10	R	R	R	R	R	R	R
10	Sulf+Trimetroprim	SxT	25	R	R	R	R	I	R	R
11	Tetraciclina	TE	30	R	R	R	R	R	R	R
Elaborado por: Sebastian Juma				R: Resistente		I: Intermedio			S: Sensible	

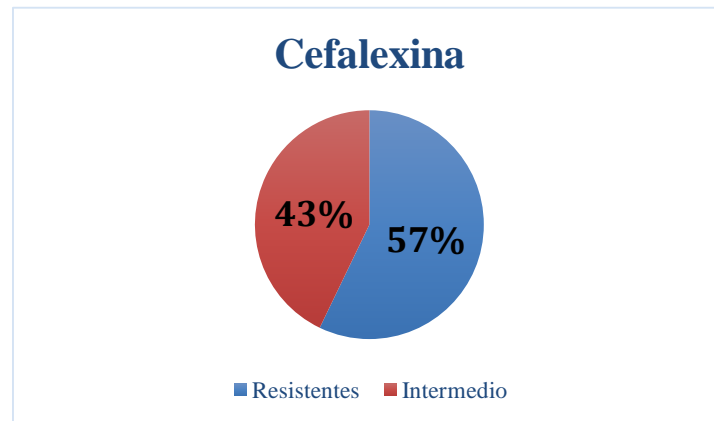
11.3. Resultados de los antibióticos

11.3.1 Cefalosporinas

Cefalexina (Figura 15) presenta el 57% resistencia y el 43% muestra una resistencia intermedia. Este tipo de cefalosporina fue aplicado en pollos de 5-7 semanas, pero hubo complicaciones debido a que se encontraron concentraciones de 10 veces más del fármaco, por lo que fue eliminada y por ello no se encuentran parámetros sobre el antibiótico (58). Eventualmente por el uso desenfrenado del antimicrobiano durante estos periodos se produjo la resistencia que se muestra en la presente investigación, otro de los

casos es que se sigue usando la cefalexina de uso humano en animales provocando tal resistencia.

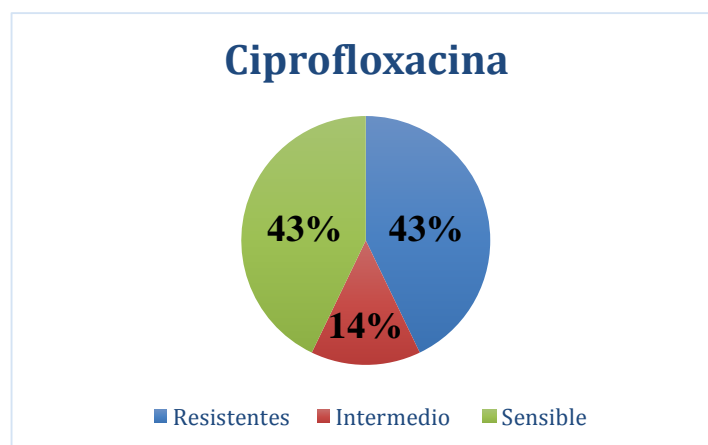
Figura 17. Resistencia a la cefalexina.



11.3.2 Quinolonas

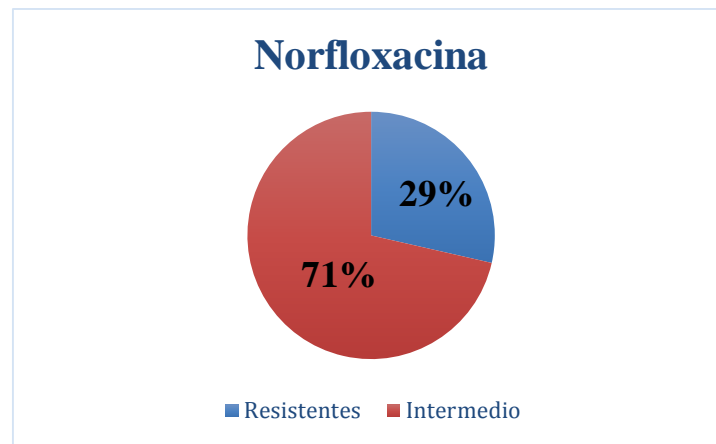
En tanto la ciprofloxacina (figura 16) muestra una resistencia del 43%, la resistencia intermedia es del 14% y tiene una sensibilidad del 42%. Si la comparamos con la enrofloxacin esta tiene una resistencia superior, esto puede deberse a que la enrofloxacin muestra eficacia cuando es sometida a cargas bacterianas alta, además que carece actividad sobre las bacterias persistentes, todo lo contrario, a la ciprofloxacina (59). Por otra parte, se ha observado mutaciones en el gen *gyrA* o en otros como el gen *parC* por uso de la ciprofloxacina.

Figura 18. Resistencia a la ciprofloxacina.



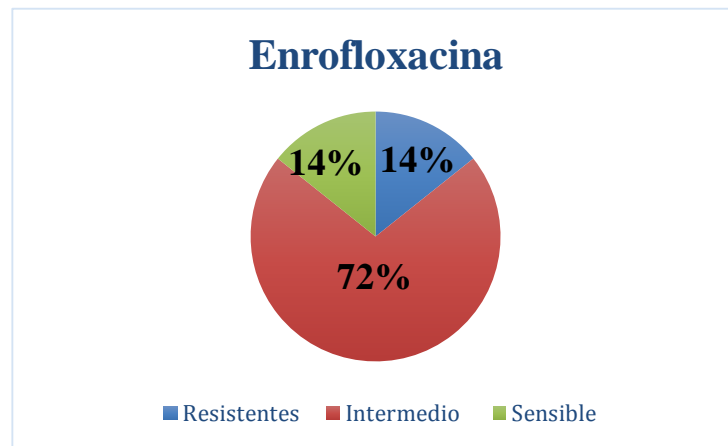
La norfloxacin (figura 17) muestra valores semejantes a la enrofloxacin en cuanto a resistencia intermedia, en tanto que la resistencia le supera con el 15%, el doble del valor emitido por la enrofloxacin. En la investigaci3n de Mosquito Y Ruiz describen que este tipo de resistencia se relaciona por la variante cr de la acetiltransferasa, esta enzima tiene una diseminaci3n en cepas de *E. coli*, la cual ya ha sido aislada en pacientes humanos (22).

Figura 19. Resistencia a la norfloxacin.



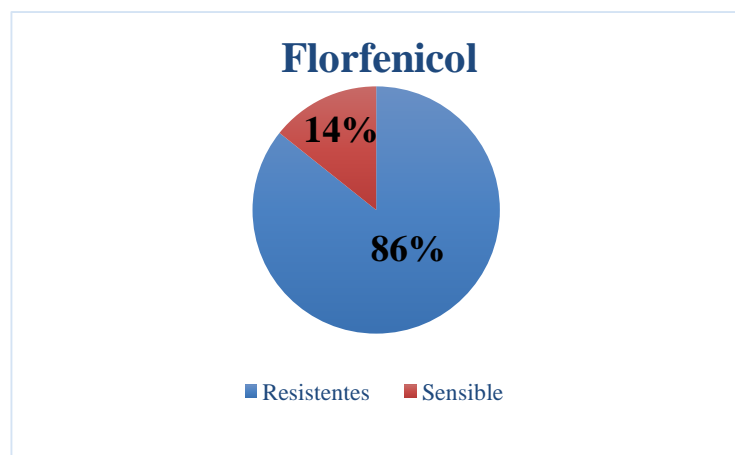
11.3.3 Fluoroquinolonas

La enrofloxacin (figura 18) muestra una resistencia de *Escherlichia coli* del 14%, la resistencia intermedia es del 72% y tiene una sensibilidad del 14%. Es necesario mencionar que la enrofloxacin fue aceptada en 1999 para ser usada como antibi3tico, a causa de que ya se prevenía la resistencia de las cepas bacteriana y la FDA (Food and Drug Administration) temía que esta resistencia pueda ser pasada a los consumidores y que el tratamiento de la ciprofloxacina en el ser humano sea ineficaz, dado el caso, Sumano y Gutierrez muestran una resistencia del 28% en su investigaci3n en explotaciones avícolas, cabe mencionar que sus muestras también provienen de aguas residuales provenientes de las producciones (59). Este medicamento es muy usado en el campo de la medicina veterinaria debido a su distribuci3n completa a nivel tisular. Seg3n Otero y Mestorino, la creciente problemática de la resistencia a esta fluoroquinolona se debe a la fabricaci3n excesiva de entidades no registradas para la elaboraci3n de este fármaco y por el uso excesivo de compuestos quinolonicos (60).

Figura 20. Resistencia a la enrofloxacin.

11.3.4 Fenicoles

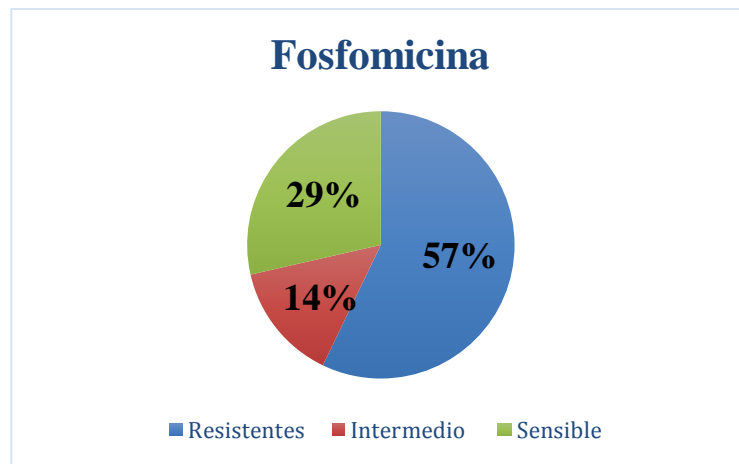
En cuanto al florfenicol, (figura 19) se evidencia una resistencia del 86% y una sensibilidad del 14%, estos datos son proporcionales a la tesis de Chacón la cual muestra el 100% en resistencia. Este tipo de resistencias puede deberse a que las cepas de *E. coli* están expresando el gen *flo*, el cual se encarga de transferir la resistencia, debido a que altera la capa de florfenicol que se forma en el citoplasma (61).

Figura 21. Resistencia al florfenicol.

11.3.5. Misceláneos

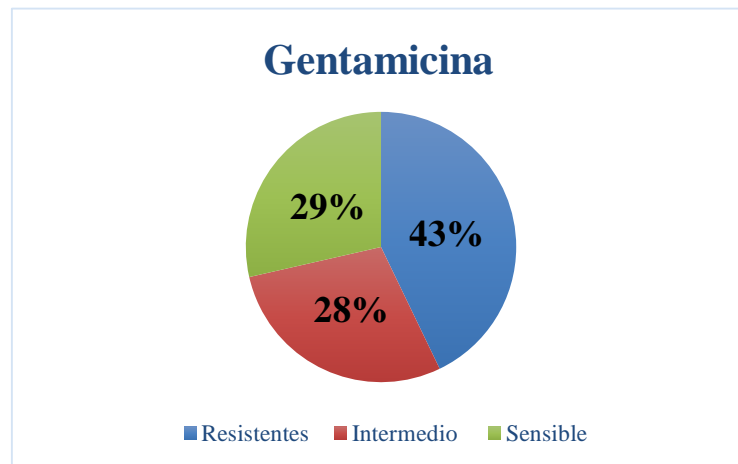
La fosfomicina (figura 20), demuestra una resistencia del 57%, muy alejado de los valores de Aramayona en el año de 1997, debido en que este año se presenta a este medicamento como alternativa ya que no presentaba resistencia (58), en el transcurso de 25 años este medicamento presenta más del 50% de resistencia hacia diferentes microorganismos. En el estudio con muestras de humanos de Sheyber la resistencia es mucho mayor que los resultados obtenidos en esta investigación. (72.2%) (62).

Figura 22. Resistencia a la fosfomicina.



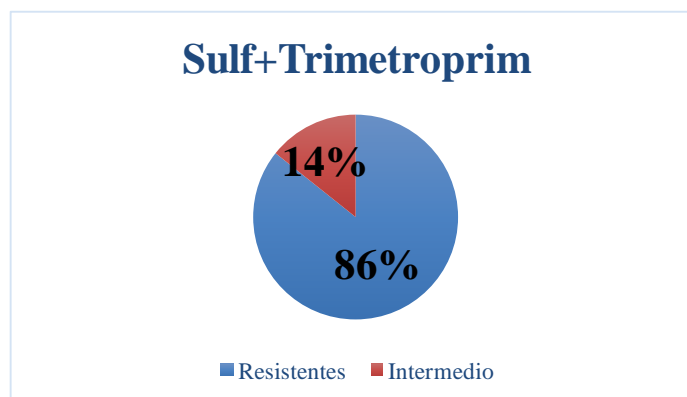
11.3.6 Aminoglucósidos

En el grupo de antibióticos muestreados, la gentamicina (Figura 21) presenta el 43% de resistencia, además de una resistencia intermedia del 28% y es sensible en un 29% a las cepas de *E. coli*. En el artículo de Chacón se evidencia una baja resistencia (6.25 – 7.1%), pero cabe mencionar que evalúan los diversos medicamentos mediante terapias comparativas. Por otra parte, también mencionan que, aunque la gentamicina es muy usada en el área de medicina veterinaria y humana es poco implementada en las producciones avícolas debido al tipo de dosificación (61). Estos resultados pueden deberse a la variabilidad de presentaciones que usan la gentamicina, incluyendo medicamentos de uso humano, el cual muchas de las veces son usadas para medicar animales, es así que el uso antimicrobiano es un abuso inadecuado de la farmacología.

Figura 23. Resistencia a la gentamicina.

11.3.7 Sulfonamidas

Sulfametaxol+trimetroprim (Figura 22) muestran una resistencia del 86% y una resistencia intermedia del 14%. Este tipo de compuestos nace debido a que la década de los 90s ya presenciábamos resistencia a las sulfonamidas, a lo cual se combina con otros antimicrobianos para potencializar el fármaco. En vista de ello, y como bien se sabe, la mala administración de esta asociación ya está generando resistencia a las cepas de E. coli, En el artículo publicado por Carvajal, se señala una resistencia entre el 23.5 % al 37.8%, se debe mencionar que sus muestras fueron tomadas en humanos, no obstante, en el ámbito veterinario y humanos este medicamento es usado con la misma frecuencia (58). Posiblemente esta resistencia es el producto de la evolución debido a que los genes sul1, sul2 y dfr están codificando mutaciones en la enzima dihidropteroato sintasa, la cual no puede ser inhibida por esta asociación antibiótica (22).

Figura 24. Resistencia a Sulf+Trimetroprim

12.- IMPACTOS

Sociales

En la actualidad, el consumo de productos de origen animal aumenta con el paso del tiempo debido al crecimiento demográfico. El consumo de carne de pollo es habitual, no obstante, su inocuidad se ve afectada por la contaminación de ciertas bacterias como *Escherichia coli*, y su presencia puede llegar a causar problemas de salud, volviéndose más peligroso para niños y ancianos, a esto se agrega la resistencia que posee *E. coli* peligrando la salud pública y llevando a las futuras generaciones a una falta de métodos efectivos para combatirla.

Ambientales

Los desechos emitidos por las granjas o el faenamiento de los pollos y otros animales de producción contribuyen con la contaminación hídrica, el cual es imperceptible para la sociedad. Si los propietarios de las explotaciones animales no supervisan esta clase de desechos y el manejo de las aguas residuales pueden generar focos de infección por *E. coli*, que puede llegar a ser diseminada enormemente y seguir contagiando a animales y personas.

Económicos

La bacteria *E. coli* puede generar enfermedades como la colibacilosis aviar provocando grandes pérdidas económicas debido a la alta mortalidad que presenta, pudiendo acabar con galpones enteros, de igual forma, la presencia de esta bacteria conlleva análisis contantes y gastos veterinarios y de antibióticos, esto con el fin de establecer estrategias que mejoren la salubridad y salud de los animales de producción.

13.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El procedimiento y los materiales requeridos según ISO 16654: 2001, fueron los necesarios, ya que se obtuvieron colonias de *E. coli* de las diferentes muestras recolectadas.
- Las pruebas bioquímicas y el software de Microgen comprobaron la presencia de *E. coli* en un porcentaje de probabilidad entre el 75.81% al 97.11% entre las diferentes muestras recolectadas.

- Los discos de sensibilidad implementados para medir la sensibilidad de la bacteria, muestran que las colonias procedentes del piso e hisopados cloacales de los pollos broiler, presentan niveles de resistencia y resistencia intermedia a diferentes antibióticos, ya que en un principio se formó un halo inhibitorio, que consecuentemente fue repoblado por dichas colonias, en mayor o menor cantidad.

13.1.- RECOMENDACIONES

- Mantener las herramientas, diferentes productos y materiales implementados para el cultivo e investigación de microorganismos de manera adecuada y asegurarse de su fecha de caducidad, para que estos factores no alteren el crecimiento y desarrollo del microorganismo de interés.
- Seguir de manera metódica los procedimientos marcados por el fabricante para obtener los resultados deseados.
- Esterilizar todas las herramientas y recipientes que fueron usados para sembrar y almacenar las bacterias, manejar de manera adecuada los desechos con el fin de evitar la liberación de las colonias obtenidas al medio ambiente.

14.- BIBLIOGRAFÍA.

1. Gladys, T. & Olayinka, I. Salmonella and Escherichia coli contamination of poultry meat from a processing plant and retail markets in Ibadan, Oyo State, Nigeria. [Internet]. 2014. [Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/2193-1801-3-139>
2. Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador. (CONAVE). Estadísticas del sector avícola. [Internet]. 2021.[Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en:<https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/2193-1801-3-139>
3. [Gibert M. Asociación Española de Ciencia Avícola. Colibacilosis en avicultura: Situación actual.](#) [Internet]. 2010.[Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/colibacilosis_en_avicultura_-_magdalena_gibert.pdf
4. Durairaj V, Clark D. Escherichia coli: un oportunista que causa enteritis. Nutrición y Terapéutica Veterinaria, S, L. [Internet]. 2007. [Citado el 20 de enero de 2022]. Disponible en: <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2008/1/3700-escherichia-coli-un-oportunista-que-causa-enteritis.pdf>
5. Organización Mundial de la Salud (OMS). E. coli. [Internet]. 2018. [Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/e-coli>
6. Trujillo C. Análisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos de la leche cruda que se expende en el mercado de santa rosa, ciudad de Riobamba. [Internet]. 2016. [Citado el 10 de agosto del 2022]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6328/1/56T00672.pdf>
7. Revista Habanera de Ciencias Médicas. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. [Internet]. 2017. [Citado 21 de enero del 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011
8. Canet, J. Escherichia Coli: características, patogenicidad y prevención (I). Blog sobre seguridad alimentaria. [Internet]. 2016. [Citado el 19 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
9. [Organización Mundial de la Salud \(OMS\). Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria.](#) [Internet]. 2015.[Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>

10. Miranda D. National Geographic España. Las superbacterias causan más de un millón de muertes al año. [Internet]. 2022. [Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/superbacterias-causan-mas-millon-muertes-ano_17804
11. Gonzáles N. Escherichia coli. Una revisión bibliográfica. [Internet]. 2020. [Citado el 9 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://revistamedica.com/escherichia-coli-revision-bibliografica/>
12. Dr. Méndez A. Escherichia coli. Enfermedades bacterianas y gastrointestinales. Ciencias Médicas. [Internet]. 2012. [Citado el 11 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373>
13. Schiffrin E, Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. National Library of Medicine (NIH). [Internet]. 2002. [Citado el 11 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12142966/>
14. Cebra J, Qing J, Jiang H, Boiko N, Tlaskalova-Hogenova H. The Role of Mucosal Microbiota in the Development, Maintenance, and Pathologies of the Mucosal Immune System. [Internet]. 2005. [Citado el 11 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150267/>
15. O'Hara A, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. National Library of Medicine (NIH). [Internet]. 2006. [Citado el 12 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1500832/>
16. Gómez M, Acero F. Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. [Internet]. 2011. [Citado el 12 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/download/680/724>
17. Perelló, M. Universidad Complutense De Madrid. Facultad de veterinaria departamento de sanidad animal. Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras. [Internet]. 2010. [Citado el 24 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.visavet.es/data/tesis/deteccion-y-caracterizacion-de-aislados-de%20Escherichia-coli-de-origen-clinico-y-fecal-en%20gallinas-ponedoras.pdf>
18. León P, Vázquez G. Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en muestras de orina de pacientes ambulatorios de los centros de salud 1, 2 y 3 de la ciudad de Cuenca. Universidad De Cuenca, Facultad de ciencias químicas carrera de bioquímica y farmacia. [Internet]. 2013. [Citado el 24 de enero del 2022]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4631/1/TESIS.pdf>
19. Piocello V. Caracterización de cepas y plásmidos de *Enterobacteriaceae* portadores de β - lactamasa de espectro extendido. Universidad Autónoma de Barcelona. [Internet]. 2007. [Citado el 24 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3908/vbp1de1.pdf;jsessionid=57D30548C5C4E452F1540B27DA1561B9?sequence=1>

20. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). [Internet]. 2015. [Citado el 20 de enero de 2022]. Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es#gsc.tab=0
21. López A, Cepeda A, Herrera A, de Santos R. 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/enterohemorrágicos (VTEC/STEC/EHEC). [Internet]. 2012. [Citado el 20 de enero del 2022]. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/ESCHERICIA_COLI2.pdf
22. Mosquito S, Ruiz J, Bauer J, Ochoa T. Revista Perú, Medicina y salud pública. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. [Internet]. 2011. [Citado 24 de enero del 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
23. Souza V, Castillo A, Rocha M, Sadner L, Silva C, Eguiarte L. Ecología. evolutiva de *Escherichia coli*. [Internet]. 2001. [Citado 22 de enero del 2022]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S03781844200100100016#:~:text=coli%3A,E.,%2C%20Salmonella%2C%20Vibrio%20y%20Haemophilus
24. Loureiro J, Roque, F, Teixeira A., Herdeiro M, Ramalheira, E. Revista portuguesa de salud pública. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. [Internet]. 2016. [Citado el 12 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/107519/1/RUN%20-%20RPS%20-%202016%20-%20v34n1a10%20-%20p77-84.pdf>
25. Muñoz R. Universidad De Chile, facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. detección de integrones en cepas de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos. [Internet]. 2014. [Citado el 24 de enero del 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/131800>
26. Sabaté M, Prats G. Universidad Autónoma de Barcelona España. Estructura y función de los integrones. [Internet]. 2002. [Citado el 13 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0213005X02728139>
27. Thierry E. Deprez E. Delelis O. Different Pathways Leading to Integrase Inhibitors Resistance. [Internet]. 2014. [Citado el 13 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.02165/full>

28. Narváez P, Pedroza R, Guillermina A, Rodríguez L. Caracterización de plásmidos de resistencia a antibióticos en aislados nosocomiales del Hospital Universitario de Caracas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. [Internet]. 2005. [Citado el 25 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1994/199416547006.pdf>
29. Di Conza J. Power P. Gutkind G. Laboratorio de Resistencia Bacteriana. Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad de Buenos Aires. Intercambio de mecanismos de resistencia entre bacterias Gram negativas. [Internet]. 2013. [Citado el 25 de enero del 2022]. Disponible en: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/1729/RFR_2013_57.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Los%20transposones%20pueden%20considerarse%20como,en%20otro%20diferente%20\(4\).](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/1729/RFR_2013_57.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Los%20transposones%20pueden%20considerarse%20como,en%20otro%20diferente%20(4).)
30. Santos J, Contreras G, Gómez M. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. Vol:47, Núm:3-4. La fase estacionaria en la bacteria *Escherichia coli*. [Internet]. 2005. [Citado el 27 de enero del 2022]. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-3_4f.pdf
31. Organización mundial de la salud (OMS). *E. coli*. [Internet]. 2018. [Citado 27 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>.
32. Dirección general de salud pública. Medidas de prevención y control en los establecimientos alimentarios. [Internet]. 2016. [Citado 7 de febrero del 2022]. Disponible en: <https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/e-coli-patogenico-zoonosis-alimentaria-emergente#:~:text=Escherichia%20coli%20se%20encuentra%20en,que%20C3%A9ste%20entra%20en%20contacto>.
33. Centro para el control y prevención de enfermedades (CDC). La *E. coli* y la seguridad de los alimentos. [Internet]. 2018. [Citado 7 de febrero del 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>.
34. CDC. Centros para el control y la Prevención de Enfermedades. ¿Qué son los antibióticos? [Internet]. 2022. [Citado el 12 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/sp/should-know.html#:~:text=Los%20antibi%C3%B3ticos%20son%20medicamentos%20que,dificultando%20su%20crecimiento%20y%20multiplicaci%C3%B3n>.
35. Obando P, Suárez M, Esparza J. Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria (AEPap). Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos. [Internet]. 2020. [Citado el 8 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.guia-abe.es/files/pdf/Gu%C3%ADa%20ABE_ATBs_191020%20FINAL.pdf
36. Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). [Internet]. 2022. [Citado el 18 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://clsi.org/about/clsi-and-international-standards-development/>

37. Herrera D. Determinación de enterobacterias mediante coprocultivo y su relación con gastroenteritis no parasitaria en pacientes adultos que residen en el cantón Pujilí – Cotopaxi. [Internet]. 2016. [Citado el 18 de agosto del 2022]. Disponible en:
<https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/24271/2/Herrera%20Dur%C3%A1n%20Magaly%20Johana.pdf>
38. International Organization for Standardization (ISO). [Internet]. 2022. [Citado el 18 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.iso.org/about-us.html>
39. Sistema Nacional de Información (SNI). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Parroquial de la Parroquia Poaló. [Internet]. 2015. [Citado el 25 de julio del 2022]. Disponible en: http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/0560018670001_PLAN%20DE%20DESARROLLO%20Y%20ORDENAMIENTO%20TERRITORIAL_15-05-2015_19-31-58.pdf
40. Condalab. Medio de Transporte Stuart. Para el transporte y mantenimiento de todo tipo de muestras. [Internet]. 2019. [Citado el 23 de febrero del 2022]. Disponible en: https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=13754#:~:text=Medio%20de%20Transporte%20Stuart%20es,s%C3%B3lo%20para%20retrasar%20la%20oxidaci%C3%B3n
41. Labomersa. Cabinas de Flujo Laminar: ¿Para qué sirven? [Internet]. 2018. [Citado el 23 de julio del 2022]. Disponible en: <https://labomersa.com/2021/02/03/cabinas-de-flujo-laminar-para-que-sirven/#>
42. Condalab. Caldo Soja Trypticaseína (TSB). Para uso general en laboratorio y cultivo de microorganismos exigentes. [Internet]. 2019. [Citado el 25 de julio del 2022]. Disponible en: [https://www.condalab.com/int/en/index.php?controller=attachment&id_attachment=13934#:~:text=Caldo%20Soja%20Trypticase%C3%ADna%20\(TSB\)%20es,de%20investigaci%C3%B3n%20diag%C3%B3stica%20o%20microbiolog%C3%ADa](https://www.condalab.com/int/en/index.php?controller=attachment&id_attachment=13934#:~:text=Caldo%20Soja%20Trypticase%C3%ADna%20(TSB)%20es,de%20investigaci%C3%B3n%20diag%C3%B3stica%20o%20microbiolog%C3%ADa)
43. BD MacConkey II Agar. Instrucciones de uso, medios en placa listos para usar. [Internet]. 2014. [Citado el 25 de julio del 2022]. Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
44. Mandigan T, Martinko J, Dunlap P, Clark D. “Brock, Biología de los microorganismos”. Duodécima edición. (Pag: 124). 2009. [Citado el 4 de agosto del 2022].
45. Ing Santatambrosio E, Ing Ortega M, Ing Garibaldi P. 2009. [Internet]. Siembra y recuento de microorganismos. [Internet]. 2009.[Citado el 4 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.fro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_ano/biotecnologia/practicoIII.pdf

46. Condalab. Agar Macconkey. Preparación. Para el aislamiento e identificación de *Enterobacteriaceae*. [Internet]. 2019. [Citado el 25 de julio del 2022]. Disponible en: https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=8202
47. Condalab. Agar Nutritivo. Para la enumeración de microorganismos en agua y otros materiales. [Internet]. 2021. [Citado el 25 de julio del 2022]. Disponible en: <https://www.condalab.com/int/es/medios-de-cultivo-deshidratados/901-11569-agar-nutritivo-estandar-i.html>
48. Bastidas E, Vaca J. Caracterización de microorganismos con actividad antimicrobiana provenientes de suelos de los cantones Quito y Rumiñahui. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito. [Internet]. 2018. [Citado el 27 de julio del 2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16074/1/UPS-QT13247.pdf>
49. Microgen. Microgen Enterobacterias ID GN-A 60 tests. [Internet]. 2017. [Citado el 20 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.bioser.com/productos/microgen-gn-id-a-349p/#:~:text=El%20Microgen%20GN%20A,bacilos%20Gram%20negativos%20oxidasa%20positivos>.
50. Condalab. Agar Mueller Hinton II. Para pruebas de sensibilidad a antibióticos. [Internet]. 2019. [Citado el 27 de julio del 2022]. Disponible en: https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=16955
51. Britania. Agar Mueller Hinton. Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos. [Internet]. 2018. [Citado el 27 de julio del 2022]. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070756160103.pdf
52. Mandigan T, Martinko J, Dunlap P, Clark D. “Brock, Biología de los microorganismos”. Duodécima edición. (Pag: 1014). [Citado el 9 de agosto del 2022].
53. Cercenado E, Lozano J. El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales. [Internet]. 2009. [Citado el 14 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-el-antibiograma-interpretacion-del-antibiograma-S1696281809719274>
54. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Estándares de sensibilidad antimicrobiana mediante medición del diámetro de halo determinado. [Internet]. 2022. [Citado el 16 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://clsi.org/>

55. Guamán R, Capa M, Yunga V, Herrera R, Escudero G. Cambios en el microbiota intestinal de las aves y sus implicaciones prácticas [Internet]. 2022. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323152630_Cambios_en_la_microbiota_intestinal_de_las_aves_y_sus_implicaciones_practicas
56. Cantón R. Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. Elsevier. [Internet]. 2022. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-una-S0213005X1000087X>
57. Betrán A, Lavilla M, Cebollada R, Calderón M, Torres. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018. [Internet]. 2020. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2020000300198#:~:text=La%20combinaci%C3%B3n%20de%20penicilina%20con%20inhibidor,terapia%20emp%C3%ADrica%20en%20infecciones%20nosocomiales
58. MV. Vega L. Biodisponibilidad y farmacocinética de antibacterianos en avicultura. [Internet]. 2009. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: https://www.adiveter.com/ftp_public/A3270608.pdf
59. Patricelli P, Ramirez E, Presa C, Dell'Elce A, Formentini E. Efecto de la persistencia bacteriana sobre la eficacia de la enrofloxacin y ciprofloxacina frente a una cepa de *Escherichia coli*. [Internet]. 2017. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/favecv/v16n1/v16n1a04.pdf>
60. Otero J, Mestorino O, Errecalde J. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. [Internet]. 2001. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11128>
61. Chacón O. efecto de florfenicol sobre la sensibilidad de *Escherichia coli* proveniente de la microbiota intestinal de gallinas de postura. [Internet]. 2012. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131404/Efecto-de-florfenicol-sobre-la-sensibilidad-de-Escherichia-coli-proveniente-de-la-%20microbiota-intestinal-de-gallinas-de-postura.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
62. Sheyber J, Zanudio P, Merino R. Sensibilidad a fosfomicina en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. [Internet]. 2018. [Citado el 22 de agosto del 2022]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100011#:~:text=La%20fosfomicina%20es%20una%20buena,en%20la%20poblaci%C3%B3n%20\(15\)](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100011#:~:text=La%20fosfomicina%20es%20una%20buena,en%20la%20poblaci%C3%B3n%20(15))

15.- ANEXOS**Anexo 1.** Hoja de vida del tutor del proyecto.**NOMBRES:** Vanessa del Rosario **APELLIDOS:** Herrera Yunga**CÉDULA:** 1103758999**FECHA DE NACIMIENTO:** 26 junio de 1984**ESTADO CIVIL:** Divorciada**DIRECCIÓN:** Machala, San Felipe. Av. Eloy Alfaro**TELÉFONO:** 0991358446**E-MAIL:** vanherre9969@gmail.com**INSTRUCCIÓN FORMAL:**

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

TÍTULO DE 3^{CER} NIVEL: Medica Veterinaria Zootecnista.**INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR:** Universidad Nacional De Loja**TIPO:** Nacional**NÚMERO DE REGISTRO:** 1008-10-1019290**FECHA DE REGISTRO:** 2010-09-29**TÍTULO DE 4^{TO} NIVEL:** Master universitario en microbiología aplicada**INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR:** Universidad Autónoma De Barcelona**TIPO:** Extranjero**NÚMERO DE REGISTRO:** 7297R-13-11148**FECHA DE REGISTRO:** 2013-11-20

Anexo 2. Hoja de vida del autor del proyecto.**NOMBRES:** Erick Sebastian**APELLIDOS:** Juma Carcelén**CÉDULA:** 1750640524**FECHA DE NACIMIENTO:** 3 agosto de 1999**ESTADO CIVIL:** Soltero**DIRECCIÓN:** Cumbayá, San Juan bajo, calle General Eloy Alfaro y pasaje Leopoldo Sea**TELÉFONO:** 096905888**E-MAIL INSTITUCIONAL:** erick.juma0524@utc.edu.ec**E-MAIL PERSONAL:** sebasjuma1@gmail.com**PREPARACIÓN ACADÉMICA****INSTITUCIÓN PRIMARIA:** Escuela fiscal mixta Carlos Aguilar**INSTITUCIÓN SECUNDARIA:** Colegio Nacional Cumbayá**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA:** Universidad Técnica de Cotopaxi - Egresado

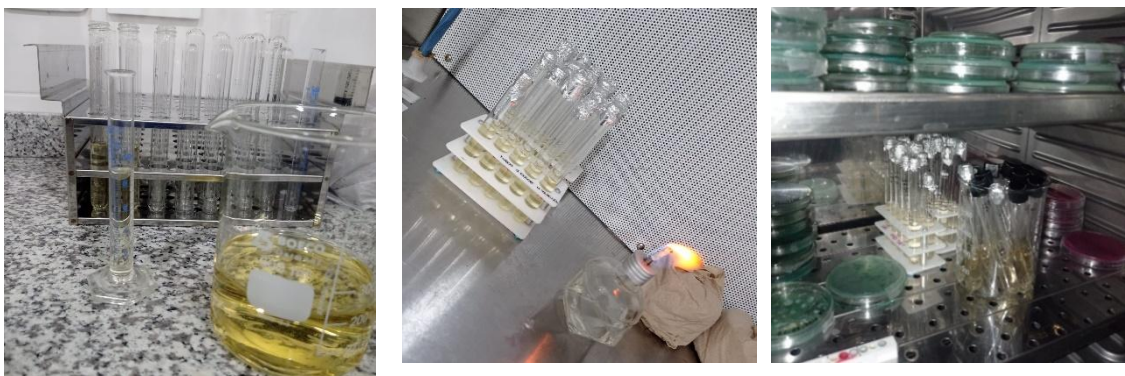
Anexos 3. Recolección de muestras en medios de transporte Stuart.



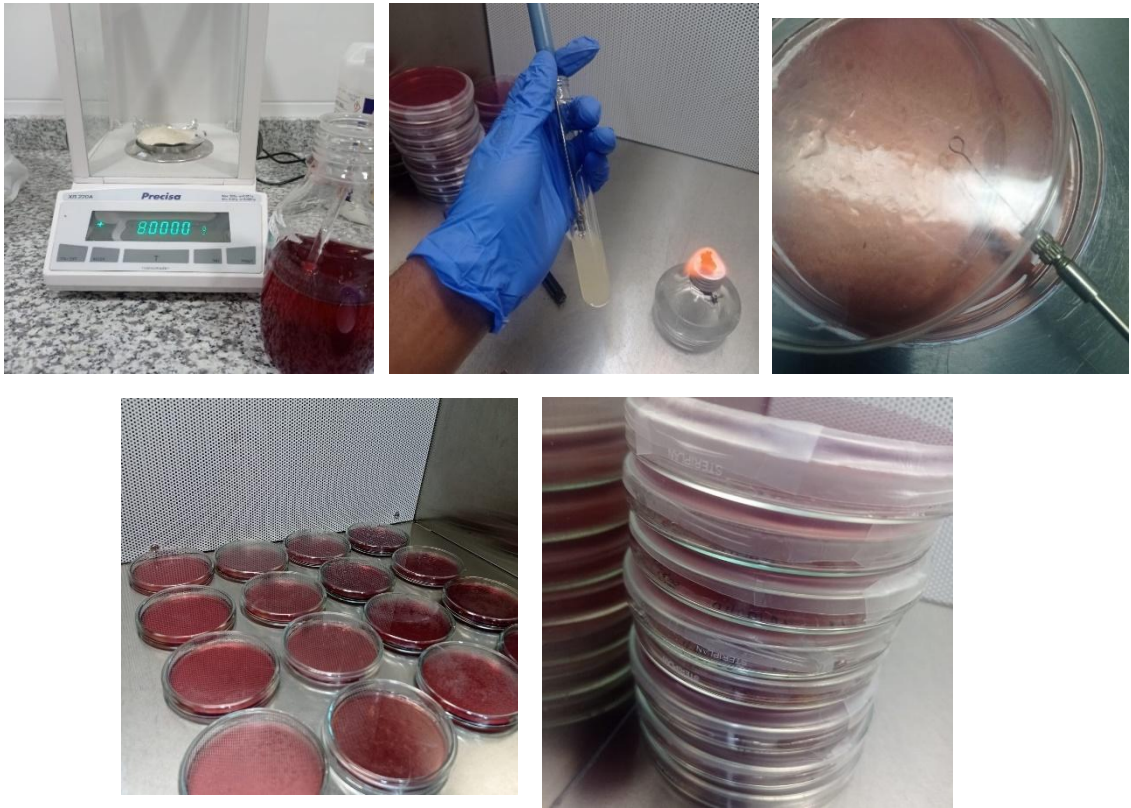
Anexos 4. Almacenamiento y transporte de muestras.



Anexos 5. Preparación de Caldo de soja y enriquecimiento de muestras en laboratorio.

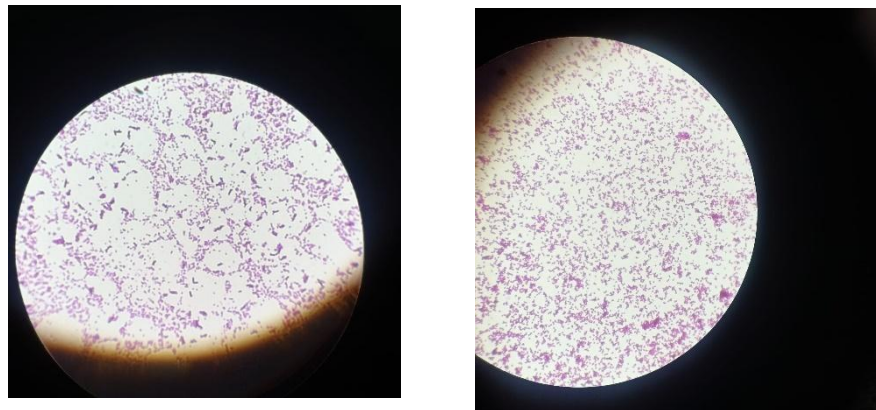
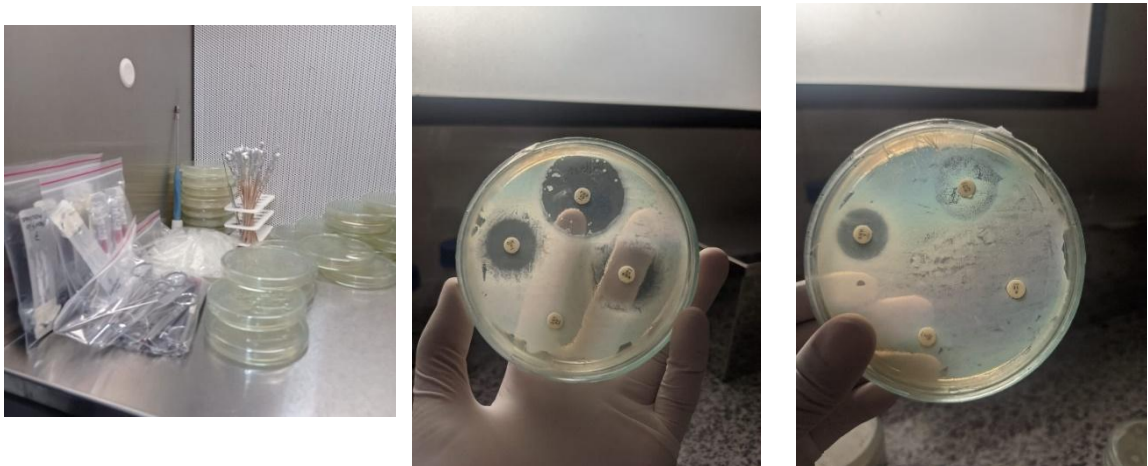


Anexos 6. Preparación, inoculación y fase de encubación de Agar MacConkey.



Anexos 7. Creamiento e identificación de colonias de *E.coli*



Anexos 8. Observación en microscopio de muestras después de tinción Gram**Anexos 9.** Purificación de colonias y pruebas bioquímicas.**Anexos 10.** Colocación de discos de sensibilidad, análisis de resultados y ejemplos de colonias resistentes.

Anexo 11. Aval de traducción



CENTRO
DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

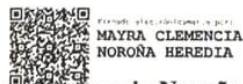
En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE Escherichia coli EN AISLADOS DE DEYECCIONES EN POLLOS BROILER DE LOS CRIADEROS DE POALÓ DEL CANTÓN LATACUNGA”** presentado por **Juma Carcelén Erick Sebastián**, egresado de la Carrera de: **Medicina Veterinaria**, perteneciente a la **Facultad de 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 aval para los fines académicos legales.

Latacunga, Septiembre del 2022

Atentamente,



Mayra Clemencia Noroña Heredia



CENTRO
DE IDIOMAS

Mg. Mayra Clemencia Noroña Heredia
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC
CI:0501955470