



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Presencia de enterobacterias productoras de β -
lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de
carne de cerdo en expendio en mercados de un distrito
de Lima Metropolitana**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Miguel Bryam Jim ESPINOZA ARELLANO

ASESOR

Mg. Andrea CARHUALLANQUI PÉREZ

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Espinoza M. Presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de carne de cerdo en expendio en mercados de un distrito de Lima Metropolitana [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Miguel Bryam Jim Espinoza Arellano
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71930433
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0006-4425-4995
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Andrea Carhuallanqui Pérez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47231862
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3739-8353
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Miguel Ángel Vilca López
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07842430
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Joel André Palomino Farfán
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46238101
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Cesar Aquiles Lázaro De La Torre
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40628304
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.3.2. Inocuidad de los alimentos de origen animal

Grupo de investigación	INOCUVET - Salud Pública y Salud Ambiental
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de investigación y postgrado. PCONFIGI A19080421
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Latitud: -12.0815915 Longitud: -76.9877331
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020 - 2023
URL de disciplinas OCDE	Ciencia Veterinaria http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.00 Salud pública, Salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **lunes 04 de diciembre de 2023**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0246-EPMV/FMV-2023**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg. Vilca López Miguel Ángel	Presidente del Jurado
MV. Mg. Carhuallanqui Pérez Andrea	Asesora de la Tesis
MV. Mg. Palomino Farfán, Joel André	Miembro del Jurado
MV. Dr. Lázaro de la Torre César Aquiles	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **ESPINOZA ARELLANO MIGUEL BRYAM JIM**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE B- LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS DE CARNE DE CERDO EN EXPENDIO EN MERCADOS DE UN DISTRITO DE LIMA-METROPOLITANA”

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **diecisiete (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:30 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por:
VILCA LOPEZ Miguel Angel
FAU 20148092282 Angel: MV. Mg Prof. Principal DE
Motivo: Doy fe
Fecha: 20/12/2023 13:13:17-0500

Palomino Farfán Joel André MV. Mg. Prof. Auxiliar TC



Firmado digitalmente por
CARHUALLANQUI PÉREZ Andrea
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 03.01.2024 15:07:32 -05:00

Carhuallanqui Pérez Andrea: MV. Mg. Prof. Auxiliar TC

Lázaro De La Torre, César Aquiles: MV. Dr. Prof. Asociado DE



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Mg. M.V. Andrea Carhuallanqui Pérez en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 0198-EPMV/FMV-2022 de la tesis cuyo título es “Presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de carne de cerdo en expendio en mercados de un distrito de Lima metropolitana”, presentado por el bachiller M.V. Miguel Bryam Jim Espinoza Arellano para optar el título de Médico Veterinario CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 14 % de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

Firma del Asesor

DNI: 47231862

Andrea Carhuallanqui Pérez



Dedicatorias

A mis padres, por ser mis primeros maestros y mis mejores amigos.
Gracias a su apoyo, cada día cumplo con cada uno de mis objetivos.

A mi madre, Irma, por guiarme desde mis primeros pasos
y enseñarme que rendirse no es una opción.

A mi padre, Miguel, por ser mi guía espiritual en la vida
y enseñarme a cumplir siempre con mi palabra.

A mi hermana, Fátima, por cuidarme y enseñarme a
afrontar los infortunios de la vida.

A mi pareja, Melani, por estar presente en cada momento
especial de mi vida y compartir cada logro.

Agradecimientos

Agradezco a mi asesora, la Dra. Andrea Carhuallanqui Pérez por brindarme su tiempo, apoyo y mucha paciencia.

A la Dra. Daphne Ramos Delgado, por resolver mis dudas y darme la oportunidad de aprender más sobre esta línea de investigación.

Al Dr. Luis Gómez Puerta, gracias por la guía durante toda la carrera y por la amistad sincera.

A mis amigos, gracias por acompañarme ser parte de mis buenos y malos momentos.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE	iii
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ANEXOS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Importancia del consumo de carne de cerdo	3
2.1.1 Producción de carne de cerdo	3
2.1.2 Consumo de carne de cerdo	5
2.2 Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	6
2.2.1 Características	7
2.2.2 Estructura.....	7
2.2.3 Enterobacterias de importancia medica	8
2.3 Resistencia antimicrobiana.....	9

2.3.1	Importancia en la salud publica	9
2.3.2	Importancia en la medicina veterinaria.....	11
2.3.3	Mecanismo de resistencia a antibióticos en <i>Enterobacteriaceae</i>	11
2.3.4	Antibióticos β -lactámicos y su resistencia.....	13
2.4	Betalactamasas y betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....	14
2.4.1	Método de detección de BLEE	16
2.4.2	Presencia de enterobacterias BLEE's en alimentos de origen animal	17
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1	Lugar de ejecución y periodo de duración	19
3.2	Materiales y métodos	19
3.2.1	Materiales.....	19
3.2.2	Medios de cultivo, reactivos, antibióticos	21
3.2.3	Equipos	22
3.3	Diseño experimental.....	23
3.3.1	Tamaño de muestra	23
3.4	Toma de muestra	24
3.5	Proceso experimental	25
3.5.1	Procesado de muestras	25
3.5.2	Sembrado de Placa.....	26
3.5.3	Caracterización bioquímica	27
3.5.4	Prueba fenotípica para la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)	28
3.5.5	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana.....	29
3.6	Análisis de datos.....	31
IV.	RESULTADOS	32

V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	44
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	45

RESUMEN

Las enterobacterias han adquirido la capacidad de desarrollar diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos; uno de los principales es la producción de enzimas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Actualmente, se investiga la distribución de estas enterobacterias productoras de BLEE a través de la cadena alimentaria, habiéndose reportado su presencia en muestras de carne fresca de cerdo en diferentes países, representando un serio problema de salud pública. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de carne de cerdo en expendio en mercados de un distrito de Lima Metropolitana. Se recolectó 36 muestras de carne de cerdo que fueron transportados, en condiciones de refrigeración (4°C), al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental, para su procesamiento. Se utilizó agar EMB y el kit EnteroPluri-Test® Liofilchem para el aislamiento microbiológico, y la caracterización bioquímica de género y especie respectivamente. El análisis de susceptibilidad se realizó por difusión simple en agar y doble disco. El 55.56 % (20/36) de las muestras fueron enterobacterias productoras de BLEE, se evidenció la presencia de *Klebsiella pneumoniae* 25% (9/36), *K. ozaenae* 16.67% (6/36), y *E. coli* 13.89% (5/36). El 96.8% de las cepas de enterobacterias presentaron resistencia a lincomicina, seguido por tetraciclina (74.2 %), y sulfametoxazol-trimetoprima (58.1%). El 80% de las enterobacterias productoras de BLEE fueron multidrogoresistentes (MDR). Este estudio sugiere que la carne fresca de cerdo podría ser una fuente de enterobacterias productoras de BLEE resistentes a múltiples fármacos.

Palabras clave: BLEE, carne de cerdo, *Enterobacteriaceae*, resistencia antibiótica.

ABSTRACT

Enterobacteriaceae have acquired the ability to develop different antibiotic resistance mechanisms; one of the main ones is the production of extended-spectrum β -lactamases (ESBL) enzymes. Currently, the distribution of these ESBL-producing *Enterobacteriaceae* through the food chain is being investigated, and their presence has been reported in samples of fresh pork in different countries, representing a serious public health problem. The objective of the present study was to determine the presence of extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing enterobacteria isolated from pork meat in markets in a district of Metropolitan Lima. Thirty-six samples of pork were collected and transported, under refrigeration conditions (4°C), to the Public Health and Environmental Health Laboratory for processing. EMB agar and the EnteroPluri-Test® Liofilchem kit were used for microbiological isolation, and biochemical characterization of genus and species, respectively. Susceptibility analysis was performed by simple diffusion in agar and double disk. 55.56% (20/36) of the samples were ESBL-producing *Enterobacteriaceae*, the presence of *Klebsiella pneumoniae* 25% (9/36), *K. ozaenae* 16.67% (6/36), and *E. coli* 13.89% was evident (5/36). 96.8% of *Enterobacteriaceae* strains showed resistance to lincomycin, followed by tetracycline (74.2%), and sulfamethoxazole-trimethoprim (58.1%). Eighty percent of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* were multidrug resistant (MDR). This study suggests that fresh pork could be a source of multidrug-resistant ESBL-producing *Enterobacteriaceae*.

Key words: ESBL, fresh pork meat, *Enterobacteriaceae*, antibiotic resistance.

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Características químicas y microbiológicas de las Enterobacterias.
- Cuadro 2.** Procedencia de las muestras: mercado y puesto.
- Cuadro 3.** Interpretación de las características de las colonias en el agar EMB.
- Cuadro 4.** Sectores bioquímicos e interpretación de los resultados del kit EnteroPluri-Test®.
- Cuadro 5.** Diámetros de halos de inhibición de β -lactámicos para el análisis de susceptibilidad Kirby-Bauer.
- Cuadro 6.** Diámetros de halos de inhibición de los antibióticos de diferentes familias.
- Cuadro 7.** Proporción de cepas sospechosas de producir BLEE y cepas confirmadas mediante análisis de susceptibilidad.
- Cuadro 8.** Resultado del perfil de resistencia de cepas de enterobacterias aisladas de carne de cerdo frente a 11 antibióticos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Perú. Tendencia en la producción de carne de cerdo periodo 2000-2019.

Figura 2. Perú. Participación de las principales regiones en la producción de carne de porcino. Año 2018.

Figura 3. Perú. Tendencia de consumo de carne: Periodo 2012-2019. (kg/habitante/año)

Figura 4. Perú. Evolución del consumo per cápita de la carne de cerdo. Período 1990-2019.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Manual del kit EnteroPluri-Test®.

Anexo 2. Interpretación del CODEBOOK

Anexo 3. Método de doble disco

LISTA DE ABREVIATURAS

kg	kilogramos
µg	microgramos
°C	Grados centígrados
BLEE	β-lactamasas de espectro extendido
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
CMB	Concentración Bactericida Mínima
CLSI	The Clinical & Laboratory Standards Institute
DIGEMIND	Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas
DIGESA	Dirección General de Salud Ambiental
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ETA	Enfermedades transmitidas por alimentos
INS	Instituto Nacional de Salud
MINAGRI	Ministerio de Agricultura y Riego del Perú
MDR	Multidrogorresistente
MINSA	Ministerio de Salud del Perú
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBP	Penicillin Binding Protein

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos se convirtió en una amenaza creciente para la salud pública en el siglo XXI. Uno de los principales contribuyentes a este problema es el uso intensivo de antibióticos en la medicina veterinaria. La resistencia a antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos ha aumentado rápidamente desde los primeros casos notificados por la presencia de genes de resistencia antibiótica.

Dentro de todas las familias bacterianas implicadas en la resistencia antimicrobiana, una de las más resaltantes son las *Enterobacteriaceae*, familia a la cual pertenecen microorganismos patógenos que causan infecciones graves, tales como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. Las enterobacterias son utilizadas como indicadores que proporcionan evidencia de higiene deficiente, procesamiento inadecuado o contaminación posterior al procesamiento de los alimentos. Las enterobacterias pueden dañar la salud, ya sea por la capacidad de generar enfermedades o por producir enzimas llamadas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), que son el mayor mecanismo de resistencia. Las BLEE confieren resistencia a una amplia gama de β -lactamasas de uso común, incluidas las cefalosporinas (ceftriaxona, cefotaxima y ceftazidima), así como al aztreonam y las oxymino-b-lactam.

Según Shill *et al.* (2017), se ha comprobado que en la carne de cerdo predominan diversas enterobacterias que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las que pueden

representar un riesgo para la salud del consumidor. Esto se debe a su capacidad para difundir su material genético y transferir genes de resistencia. A lo largo del proceso de producción de carne, existen fases en las que los cerdos pueden ser portadores potenciales de bacterias generadoras de BLEE. Además, durante la etapa de evisceración en los mataderos, se presenta un riesgo de contaminación cruzada que podría llevar a la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en la carne.

Durante la última década, las enterobacterias de los animales destinados a consumo humano, como los cerdos y pollos de engorde, se han convertido en un importante problema de salud pública debido a la posible transmisión de estas bacterias. Se ha sugerido que las cepas de enterobacterias de origen animal pueden causar infecciones en humanos. La exposición de los seres humanos a estas enterobacterias resistentes a antibióticos se produce a través de la cadena alimentaria, ya sea por contacto directo o a través del medio ambiente. El contacto directo con los cerdos de engorde ha sido identificado como un factor de riesgo para el transporte de enterobacterias para humanos en las granjas de engorde. Por ello, los cerdos podrían actuar como un reservorio desde donde podría ocurrir la propagación de estas bacterias resistentes a los humanos.

Debido al creciente consumo de carne de cerdo en el Perú y el riesgo que puede implicar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos, el presente estudio tiene como objetivo determinar la presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de carne de cerdo en expendio en mercados de un distrito de Lima Metropolitana. Este estudio servirá como base para futuras investigaciones relacionadas al impacto sobre la salud pública a través de la carne de cerdo y en otros productos cárnicos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importancia del consumo de la carne de porcino

2.1.1 Producción de porcinos

La producción nacional de carne de cerdo representa una parte significativa de la producción pecuaria y agropecuaria en el Perú, lo que lo convierte en el tercer producto cárnico más importante para el Valor Bruto Agropecuario. En el año 2019, se produjeron más de 167 mil toneladas de carne de cerdo, lo que representó un aumento del 2,7% en comparación con el mismo período año anterior. Además, se observa un crecimiento sostenido en la producción de carne de esta especie a lo largo de los años, con un crecimiento promedio del 3,2% durante el período 2000-2019 y un aumento del 82,1% en comparación con el año 2000, como lo muestra la Figura 1 (MINAGRI, 2020).

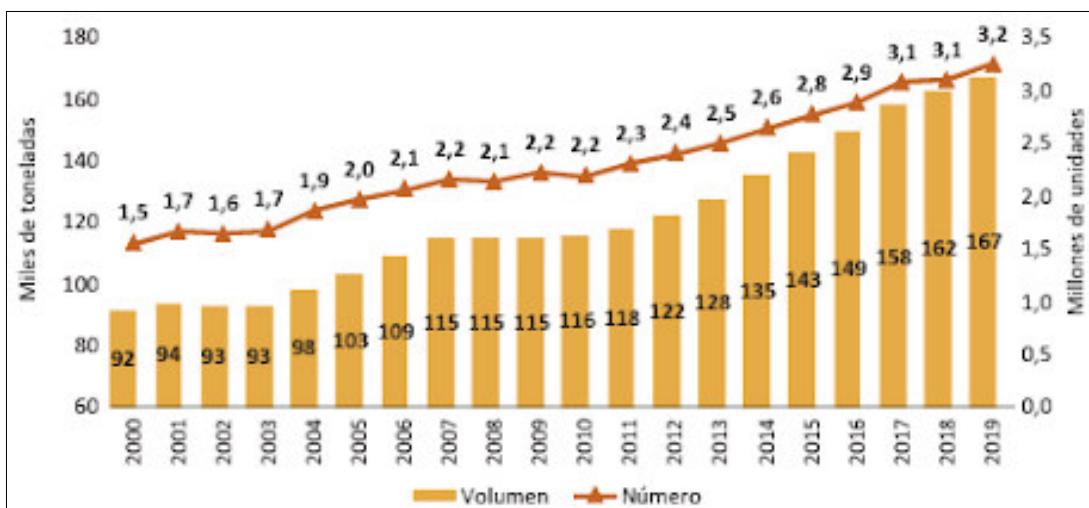


Figura 1. Perú. Tendencia en la producción de carne de cerdo periodo 2000-2019

Fuente: MINAGRI (2020)

Las principales regiones productoras de cerdos son Lima (72,8 mil toneladas), La Libertad (17,5 mil toneladas), Arequipa (11,5 mil toneladas), Huánuco (7,9 mil toneladas) y Cajamarca (6,3 mil toneladas), mientras que el resto de las regiones en conjunto producen 46,5 mil toneladas. La Figura 2 se observa la participación porcentual de las principales regiones en la producción de cerdos (MINAGRI, 2020).

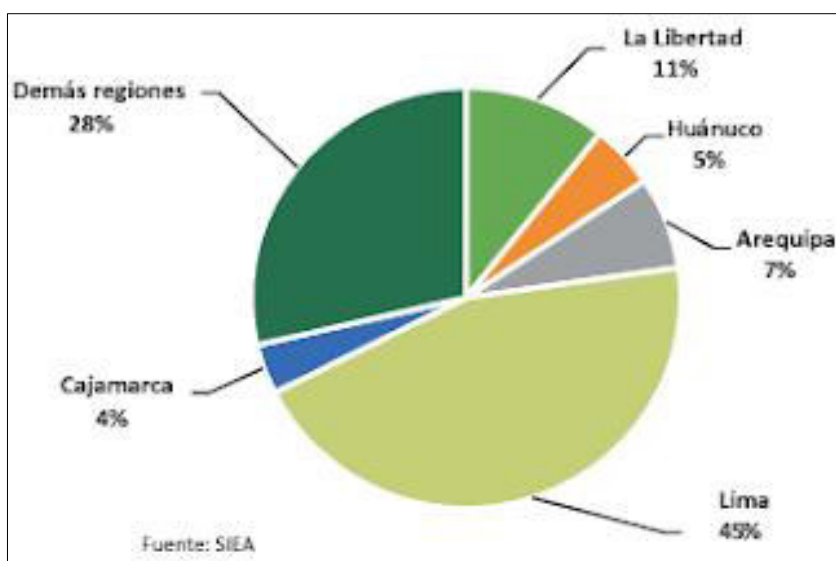


Figura 2. Perú. Participación de las principales regiones en la producción de carne de porcino. Año 2018.

Fuente: MINAGRI (2020)

2.1.2 Consumo de carne de cerdo

La carne de cerdo es ampliamente consumida en todo el mundo, siendo los países con mayor consumo per cápita: China, Taiwán, Corea del Sur y Estados Unidos. Siendo Hong Kong la ciudad que posee el más alto consumo de carne de cerdo por habitante (82 kg/hab./año). En el Perú, la carne de cerdo ocupa el tercer lugar en términos de consumo, después del pollo y el vacuno. Durante el año 2019, el consumo per cápita de carne de cerdo en el Perú fue de 5,5 kg por habitante al año y en las últimas dos décadas, ha habido un crecimiento promedio anual del 2,3% en el consumo de carne de cerdo según indica la Figura 3, lo que puede atribuirse a la creciente demanda en el país, este aumento en el consumo de esta carne se puede deber a que los consumidores valoran sus propiedades nutricionales y su versatilidad en la preparación en comparación con otras carnes (MINAGRI, 2020).

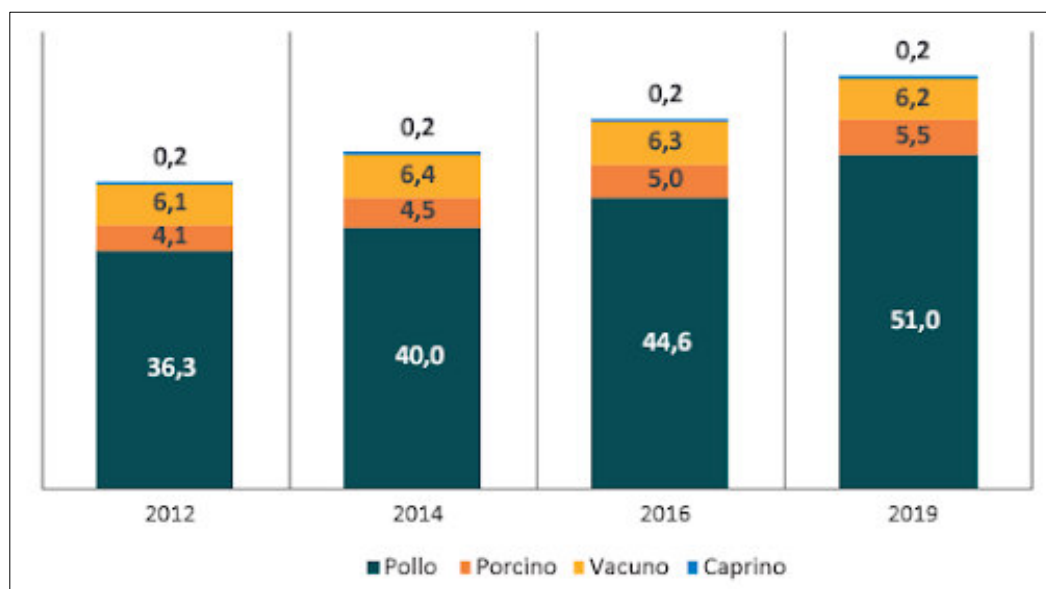


Figura 3. Perú. Tendencia de consumo de carne: Periodo 2012-2019 (kilogramos/habitante/año)

Fuente: MINAGRI (2020)

En la Figura 4, se puede observar la evolución del consumo per cápita de carne de cerdo desde 1990 hasta el año 2019, revelando un crecimiento constante con una tasa anual promedio del 2,2%, aunque con algunas variaciones en ciertos años. En general, este incremento ha sido significativo. Al comparar el consumo per cápita entre 1990 y 2019, se

observa un aumento del 78,4%, lo que significa que en 2019 se consumió aproximadamente 1,7 veces más carne de cerdo que en 1990. Estos datos destacan el notable aumento en el consumo de carne de cerdo a lo largo de estos 28 años (MINAGRI, 2020).

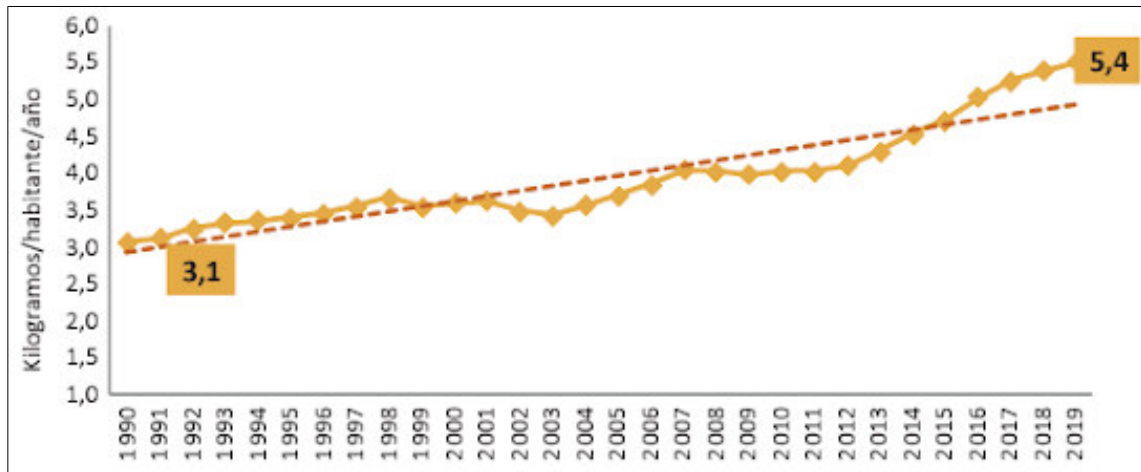


Figura 4. Evolución del consumo per cápita de la carne de cerdo, periodo 1990-2019, Perú.
Fuente: MINAGRI (2020)

2.2 Familia *Enterobacteriaceae*

2.2.1 Características

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo de bacterias, cuyo hábitat natural es el intestino de los animales, y del ser humano. Son el grupo más común de bacilos gramnegativos cortos que se cultivan en el laboratorio clínico, presentan una morfología variable, y una estructura antigénica compleja. Son fermentadores de lactosa y se consideran anaerobios facultativos, proliferando en medios aerobios y anaerobios (Riedel *et al.*, 2019). En el Cuadro 1 se pueden observar algunas de las características de esta familia.

Esta familia tiene una distribución ubicua haciendo que algunas lleguen a la cadena alimentaria causando enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), pudiendo deteriorar algunos alimentos. Contribuyendo de esta manera a las pérdidas económicas por el desperdicio de estos. Por ello, las enterobacterias son importantes para la industria alimentaria por que sirven como monitoreo de la higiene y saneamiento de los productos (Baylis *et al.*, 2011).

2.2.2. Estructura

Las enterobacterias tienen una estructura multicapa que incluye la membrana plasmática (también llamada membrana interna), el espacio periplásmico y la membrana externa. La membrana plasmática, con su doble capa de fosfolípidos, funciona como una barrera permeable esencial para controlar el flujo de nutrientes y sustancias. Además, desempeña un rol clave en la secreción de exoproteínas, como exotoxinas y enzimas hidrolíticas, que están relacionadas con la aparición de enfermedades (Ryan *et al.*, 2017).

El espacio periplásmico contiene una fina capa de peptidoglucano y juega un papel fundamental en la forma y la estabilidad osmótica de las enterobacterias. La membrana externa, característica de las bacterias gramnegativas, está formada por una bicapa lipídica asimétrica, con una capa interna principalmente compuesta de fosfolípidos y una capa externa compuesta principalmente de lipopolisacáridos (LPS) de la membrana externa (Ryan *et al.*, 2017; Puerta y Materos, 2010).

Los LPS, conocidos como antígeno O, poseen variabilidad en los azúcares de sus cadenas laterales, unidas al polisacárido central y al lípido A, lo que determina su especificidad antigénica. Las bacterias pueden formar una cápsula definida o una cápsula amorfa adherente, conocida como antígeno K. En el caso de bacterias móviles, los flagelos peritricos contienen proteínas que se extienden más allá de la pared celular y se denominan antígeno H (Riedel *et al.*, 2019)

Cuadro 1. Características químicas y microbiológicas de las Enterobacterias.

Enterobacterias	Características	Referencia
<i>Klebsiella</i> spp.	<ul style="list-style-type: none">• Positivo a lisina descarboxilasa.• Positivo a Voges-Proskauer.• Negativos a Motilidad.• Fermentan lactosa.• Son indol negativas.• Pueden utilizar citrato como única fuente de carbono.	Riedel <i>et al.</i> (2019) Ryan <i>et al.</i> (2017) Baylis <i>et al.</i> (2011)

<i>Escherichia</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Fermentan lactosa con rapidez • Producen indol triptófano. • La mayoría son móviles. • Positivo a lisina descarboxilasa. • Fermenta manitol. • Produce gas a partir de glucosa. 	<p>Riedel <i>et al.</i> (2019) Ryan <i>et al.</i> (2017) Baylis <i>et al.</i> (2011)</p>
<i>Citrobacter</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Pueden usar citrato como única fuente de carbono. • Capaz de transformar el triptófano en indol. • Fermentan la lactosa lentamente. • Emplean malonato. • No descarboxila lisina. 	<p>Riedel <i>et al.</i> (2019) Baylis <i>et al.</i> (2011)</p>
<i>Enterobacter</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Fermentan lactosa con rapidez. • Son móviles. • Positivo a ornitina descarboxilasa. • Positivo a citrato • Positivo a Voges-Proskauer. • Produce gas a partir de glucosa. 	<p>Riedel <i>et al.</i> (2019) Ryan <i>et al.</i> (2017)</p>
<i>Serratia</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Fermentan la lactosa lentamente o no la fermentan. • So móviles. • Producen ADNasa extracelular. • Positivo a lipasa. • Positivo a Voges-Proskauer. 	<p>Riedel <i>et al.</i> (2019) Baylis <i>et al.</i> (2011)</p>

Fuente: Espinoza (2023) (Elaboración propia).

2.2.3. Enterobacterias de importancia medica

2.2.3.1. *Klebsiella* spp.

Es un microorganismo oportunista patógeno que se propaga principalmente en personas inmunocomprometidos y en entornos hospitalarios. Su característica más destacada es el antígeno K, una capsula gruesa que envuelve la superficie de las bacterias. Esta cápsula actúa como una defensa eficaz contra la fagocitosis por parte de neutrófilos, macrófagos, células

dendríticas y células epiteliales. Además, la cápsula proporciona protección contra la respuesta inflamatoria al inhibir la expresión de IL-8 (Hu *et al.*, 2020). *Klebsiella* spp. se une a la célula huésped mediante las fimbrias y, mediante la formación de biopelículas, aumenta la resistencia a las defensas del hospedero y mejora su efectividad para colonizar células epiteliales (Li *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2020).

2.2.3.2. *Escherichia coli*

Es un microorganismo que se encuentra en el microbiota normal de los seres humanos. A pesar de esto, algunos tipos de *E. coli*, conocidos como patotipos, tienen la capacidad de provocar enfermedades tanto en el intestino como en otras partes del cuerpo. Este microorganismo es la causa más común de infecciones urinarias en mujeres y también es responsable de la diarrea en niños menores de dos años. Además, *E. coli* a menudo provoca brotes epidémicos en lugares cerrados como guarderías y hospitales (Riedel *et al.*, 2019). Existen más de 150 tipos diferentes de antígenos O, además de un gran número de antígenos K y H, que se identifican mediante números. La fórmula antigénica de los serotipos se crea al combinar una letra (O, K o H) con el número que se le ha asignado según los antígenos presentes (Ryan *et al.*, 2017). Las cepas de *E. coli* presentan en su estructura flagelos que entran en contacto con las células y mediante el pili tipo IV se adhiere a ellas mediante la formación de microcolonias, también cumplen la función de auto-agregación bacteriana (Farfán-García *et al.*, 2016).

2.2.3.3. *Citrobacter* spp.

Estos microorganismos se encuentran dentro de los patógenos oportunistas más frecuentes en los asilados. Son bacilos gramnegativos productores de ácido sulfhídrico y no tienen la capacidad de descarboxilar lisina. Son responsables de una amplia gama de enfermedades como: infecciones del tracto urinario (ITU), infecciones gastrointestinales, septicemia y meningitis, siendo más frecuentes en personas inmunocomprometidos y hospitalizados. Además, *Citrobacter* spp. tiene la capacidad de desarrollar resistencia a diversos tipos de antibióticos, especialmente a las betalactamasas y los carbapenémicos (Ullauri-González y Freire-Cuesta, 2019).

2.2.3.4. *Enterobacter* spp.

Estas bacterias se pueden encontrar en el suelo, agua y como parte del microbiota de animales, insectos y tracto gastrointestinal humano. Tienen la capacidad de fermentar lactosa, ser móviles y algunas poseen capsulas produciendo colonias mucoides. Estos microorganismos son responsables de diversas enfermedades adquiridas en el entorno intrahospitalario, que incluyen infecciones de heridas, infecciones urinarias y neumonía (Riedel *et al.*, 2019). Generalmente poseen una enzima β -lactamasa cromosómica, que las hace resistentes a las cefalosporinas de primera y segunda generación y a la ampicilina. En ocasiones, las mutaciones provocan una sobreproducción de β -lactamasa, lo que confiere resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (Riedel *et al.*, 2019).

2.2.3.5. *Serratia* spp.

Estas bacterias fermentan lactosa en un periodo de 3 a 4 días, producen un pigmento llamado prodigiosina, la cual le da la coloración de rojo ladrillo a las colonias que crecen en agar MacConkey, agar sangre y agar chocolate. Siendo esto una característica distintiva para su identificación (Ryan *et al.*, 2017). *Serratia* spp. son patógenos oportunistas, por lo general causan infecciones como neumonía, bacteriemia y endocarditis, especialmente en personas adictas a narcóticos y en personas hospitalizadas. Estas bacterias presentan resistencia a múltiples fármacos como penicilinas y aminoglucósidos, aun así, el tratamiento se puede realizar con cefalosporinas de tercera generación (Riedel *et al.*, 2019).

2.3 Resistencia antimicrobiana

2.3.1 Importancia en salud pública

En la actualidad, la resistencia a los antibióticos representa un importante desafío para la salud pública a nivel mundial. Si no se toman medidas para abordar esta situación, existe la posibilidad de que en el futuro los antibióticos no sean efectivos en el tratamiento de infecciones, lo que las convertiría en enfermedades mortales. La migración y la movilidad diaria agravan esta situación, ya que los gérmenes resistentes se propagan con mayor facilidad. Aunque la resistencia es un fenómeno natural, se convierte en un problema debido

al uso irracional de antibióticos en humanos, animales y agricultura, lo que acelera este proceso (Angles, 2018).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha elaborado una lista de patógenos multirresistentes que son de alta prioridad, entre los cuales se destacan bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp., que han mostrado niveles crecientes de resistencia a lo largo de varias generaciones de antibióticos (OMS, 2021). Varios estudios indican que las enterobacterias de origen animal pueden actuar como reservorios de estas resistencias, lo que puede transmitirse al ser humano a través de la cadena alimentaria (Wang *et al.*, 2006; Carattoli, 2008). Por lo tanto, es de vital importancia investigar esta familia de bacterias para mejorar el control de la diseminación de la resistencia a los antibióticos.

El uso indiscriminado de antibióticos es la principal causa de la resistencia antimicrobiana en América Latina. Sin embargo, la resistencia antimicrobiana es un problema complejo y multisectorial (Quizhpe-Peralta *et al.*, 2014). Además del uso excesivo de antibióticos, existen otras causas como los cambios ambientales y el rápido crecimiento de la población, que han favorecido la aparición de la resistencia a los antibióticos. En los países subdesarrollados, este problema puede agravarse debido a la desnutrición, la falta de higiene y el hacinamiento. Otro factor importante es la automedicación y la venta sin receta de antibióticos, lo cual genera un problema en la comunidad (OMS, 2021). A pesar de la creciente concientización y preocupación, parece persistir la inercia en mejorar la administración de los antibióticos existentes (Taylor *et al.*, 2014).

En el año 2000, el Mercosur aprobó un reglamento técnico con el objetivo de regular el uso de antibióticos en la producción animal y su presencia en los alimentos destinados al consumo humano. Este reglamento se aplica en los países miembros (Paraguay, Uruguay, Argentina y Brasil) con fines comerciales y de importación (Falcon *et al.*, 2010).

En nuestro país, la resistencia a los antibióticos representa un gran problema en términos de salud humana y salud animal. En 1997, el Ministerio de Salud (MINSA) y el Instituto Nacional de Salud (INS) iniciaron la vigilancia de la resistencia a los antibióticos,

comenzando con la vigilancia epidemiológica a través de informes sobre bacterias de origen hospitalario. Además, se realizan evaluaciones periódicas de los laboratorios para verificar el rendimiento de las pruebas de diagnóstico bacteriológico, serológico y molecular, así como la susceptibilidad a los antibióticos. También se implementó el monitoreo del uso de los antibióticos. Para abordar este problema, se estableció un plan multisectorial para combatir la resistencia a los antibióticos, cuyo objetivo es reducir el riesgo sanitario asociado con esta resistencia en el país (DIGEMIND, 2019).

DIGESA y SENASA, se encargan de monitorear la circulación de alimentos de origen animal para garantizar la inocuidad alimentaria. Es crucial seguir realizando estudios en alimentos de origen animal, ya que representan un riesgo para la población debido a la presencia de agentes patógenos. Por ejemplo, un estudio realizado en Lima Metropolitana en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde reveló la presencia de *Salmonella spp* en carne fresca de aves. Un posterior análisis realizado por el INS reportó la presencia de *Salmonella infantis*, resistente a 5 antibióticos (Zambrano *et al.*, 2013; Quino *et al.*, 2019).

El problema de la resistencia antimicrobiana en nuestro país no solo afecta la salud pública, sino que también tiene implicaciones socioeconómicas debido a los altos costos de los tratamientos que muchas veces afecta a las poblaciones vulnerables. (Taylor *et al.*, 2014). Por lo tanto, es necesario buscar intervenciones que sean efectivas y seguras para prevenir y controlar este problema, y que además utilicen de manera eficiente los recursos disponibles. Por ejemplo, se ha demostrado que los programas de gestión de antibióticos pueden reducir los costos de los agentes antimicrobianos hasta en un 58% (DIGEMIND, 2019).

2.3.2 Importancia en la medicina veterinaria

La resistencia a los antibióticos está emergiendo como un problema cada vez más grave a nivel mundial, esto no solo afecta la salud de personas, animales y el medio ambiente en general, sino que también puede tener un impacto significativo en el ámbito productivo (OPS, 2021). Los antibióticos se usan con frecuencia en la mayoría de los sistemas de producción animal con el objetivo de mejorar el estatus sanitario de los animales (Pollok *et al.*, 2020).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) posee una lista que enumera los antimicrobianos considerados importantes en el ámbito de la Medicina Veterinaria en el año 2021. La lista menciona antimicrobianos utilizados en animales destinados a la producción de alimentos. Asimismo, se basó en criterios de calidad, seguridad y eficacia, siguiendo las pautas establecidas en el código sanitario para los animales terrestres de la OIE (Capítulo 6.10: Uso responsable y prudente de agentes antimicrobianos en Medicina Veterinaria). Este documento destaca los antimicrobianos como neomicina, gentamicina, ciprofloxacina, enrofloxacino, trimetoprima + sulfametoxazol (de importancia crítica), cefalexina, lincomicina, colistina, ácido nalidíxico, tetraciclina (de importancia elevada) (OIE, 2021).

En nuestro país se emitió la Resolución Directoral N.º 072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA (2013), que prohíbe la importación, comercialización y fabricación de productos veterinarios o alimentos para animales destinados al consumo humano, que contengan como principios activos al cloranfenicol, ya que se evidencia que presenta mecanismos genotóxicos y cancerígenos. Asimismo, se prohibió el uso de la colistina y sus derivados en la producción de animales destinados a consumo humano mediante Resolución Directoral N.º 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA (2019), debido a su importancia como herramienta terapéutica en la salud humana.

En el sector agropecuario porcino, un estudio según Pollok *et al.* (2020) menciona que la administración de antibióticos en el pienso durante el proceso de crecimiento de los lechones por seis meses generó mayor abundancia y diversidad de genes de resistencia en los porcinos antes del matadero, también se evidencia que las bacterias que presentan resistencia se integraron de manera estable a la microbiota fecal de estas especies, lo que nos indica una consecuencia del uso histórico de antibióticos.

En esta lucha, los veterinarios desempeñan un papel fundamental, ya que son quienes implementan estrategias de prevención y promoción en el sector agropecuario facilitando la comunicación y colaboración entre los diferentes componentes de "One Health" (animal, humano y medio ambiente) en el ámbito de la salud pública veterinaria (OPS, 2021).

2.3.3 Mecanismo de resistencia a antibióticos en *Enterobacteriaceae*

La rápida capacidad de adaptación y propagación de bacterias que han adquirido resistencia a los antibióticos, junto con la limitada producción de nuevos fármacos eficaces, plantea un desafío considerable para el tratamiento futuro de infecciones bacterianas, especialmente aquellas provocadas por enterobacterias. En otros grupos de antibióticos, también encontramos enzimas, como las β -lactamasas, que desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la resistencia (Bonelli *et al.*, 2014).

La resistencia antibiótica se presenta de forma intrínseca y adquirida. La resistencia intrínseca es inherente para cada familia y especie. Por otro lado, la resistencia adquirida puede variar y se desarrolla en un aislado bacteriano específico.

Los mecanismos de resistencia adquirida generalmente están codificados en plásmidos, integrones e transposones, y pueden transmitirse entre diferentes especies bacterianas, principalmente a través del proceso de conjugación. Cuando esto ocurre, nos referimos a la resistencia adquirida. También se considera como resistencia adquirida a las mutaciones en el cromosoma de las bacterias, que dan como resultado el desarrollo de resistencia (Vignoli y Seija, 2006).

El grupo de las fluoroquinolonas presentan un método eficiente para el desarrollo de resistencia mediante la aparición de modificaciones en la zona crítica de resistencia a las quinolonas (QRDR) de la ADN girasa y la topoisomerasa IV. También se pueden encontrar genes de resistencia transferibles, los cuales proporcionan a las bacterias una leve elevación en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de las fluoroquinolonas. Estos factores de resistencia pueden contribuir al desarrollo de una resistencia total al brindar a las bacterias la capacidad de resistir concentraciones de fármacos que son subinhibitorias, permitiendo así diversas adaptaciones regulatorias o la incorporación de mecanismos de resistencia adicionales (Bonelli *et al.*, 2014).

La resistencia a los aminoglucósidos presenta una variedad de mecanismos de resistencia, que incluyen enzimas que modifican los fármacos, alteraciones en la absorción y la

expulsión, la acción de proteasas en la membrana y la modificación del sitio de acción. Los genes responsables de la resistencia a aminoglucósidos, como la acetiltransferasa, fosfotransferasa y nucleotidiltransferasa, han sido detectados en cepas de enterobacterias en América del Sur durante más de dos décadas y se encuentran ampliamente distribuidos en el continente. En contraste, hasta el momento, ha habido escasa documentación de la presencia de metiltransferasas de ARNr 16S mediadas por plásmidos en *Enterobacteriaceae* en América del Sur. Estas enzimas alteran el sitio de unión de los aminoglucósidos en el ribosoma y tienen la capacidad de conferir resistencia a prácticamente todos los aminoglucósidos que se utilizan en la práctica clínica (Becker y Cooper, 2013).

Otros grupos de antibióticos como penicilinas, tetraciclinas, sulfonamidas, lincosamidas y fenicoles presentan resistencia a enterobacterias mediante mecanismos como la modificación de la diana del antibiótico, producción de enzimas de inactivación, bombeo activo, resistencia adquirida por la adquisición de genes de resistencia y alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular. Estos mecanismos de resistencia pueden propagarse entre cepas y especies, generando la posibilidad de que especies que previamente no poseían ciertos genes de resistencia, los adquieran en el futuro, dado que estos genes de resistencia suelen encontrarse en elementos móviles como plásmidos (Russo, 2019).

2.3.5 Antibióticos β -lactámicos y su resistencia.

Los β -lactámicos son fármacos empleados en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias en medicina veterinaria y humana, debido a su alta capacidad antibacteriana y baja toxicidad. Asimismo, presentan un anillo β -lactámico que ejerce la función como análogo del sustrato de las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP), y posee enzimas que intervienen en la síntesis del peptidoglicano de la pared celular (Fisher y Mobashery, 2009). El anillo β -lactámico va unido a un anillo secundario, que determina los tipos de antibióticos que conforman esta familia. Además, son agentes bacteriolíticos que tienen la capacidad de lisis la célula (Massova y Mobashery, 1998).

La principal vía de resistencia a los betalactámicos en bacterias gramnegativas implica la

hidrólisis enzimática realizada por las betalactamasas, estas enzimas que se localizan en el espacio periplásmico, pueden estar codificadas tanto en el cromosoma como en los plásmidos, (Hart y Espinoza, 2008). La producción de estas enzimas puede ser activada de manera inducible, y la intensidad de la resistencia que desarrollan está relacionada con sus características hidrolíticas, su afinidad hacia el betalactámico y la cantidad de estas enzimas presentes. (Egea, 2014).

Vignoli y Seija, (2006) mencionan que existen otros mecanismos de resistencia a los betalactámicos como: las alteraciones en la diana del antimicrobiano, las alteraciones en las bombas de expulsión y la alteración de la permeabilidad de la membrana externa.

2.4 Betalactamasas y betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las betalactamasas son enzimas de naturaleza proteica, que realizan la hidrólisis del enlace amida en el anillo betalactámico de penicilinas y otros compuestos betalactámicos, resultando en la formación de compuestos sin actividad antibacteriana. Ghuysen, (1991) indican que las betalactamasas han evolucionado a partir de las PBP y presentan un alto grado de homología de secuencia. Esta evolución se le atribuye a la presión selectiva ejercida por las bacterias del entorno productores de betalactamasas.

El mecanismo de acción de las betalactamasas se basa en la presencia de un residuo de zinc o serina, esencial para la ruptura del anillo betalactámico y la hidrólisis mediante la formación de un complejo acilo-enzima. Este proceso descrito por Egea (2014), consta de varias etapas: la unión reversible no covalente entre la enzima y el anillo betalactámico, la ruptura del anillo mediante el grupo hidroxilo libre del residuo de serina para formar un enlace acilo covalente, y la participación de una molécula de agua que provoca la ruptura del enlace acilo, liberando así el antibiótico inactivo y la betalactamasa activa (Egea, 2014).

La primera β -lactamasa con codificación plasmídica fue identificada en una cepa de *E. coli* denominada como TEM-1. Aunque esta enzima pertenece a la categoría de β -lactamasa de espectro ampliado (BLEA), no se clasifica como una BLEE. La capacidad de transferirse

entre bacterias a través de plásmidos y transposones ha llevado al aislamiento de estas enzimas en diversas especies. Por otro lado, SHV-1, otra de las primeras β -lactamasas, presenta un dominio sulfidril y ha sido identificada en cepas de *K. pneumoniae* y plásmidos de cepas de *E. coli*. (Ojer-Uzos, 2015).

En las últimas décadas, han aparecido nuevas cepas BLEE derivadas mayormente de ellas de estas dos primeras enzimas TEM-1 y SHV-1. Bush (1989), indica que: “Tan pronto como un nuevo antibiótico es introducido para el uso clínico, es identificada una nueva β -lactamasa con la capacidad de destruir esta actividad”.

2.4.1 Método de detección de BLEEs con inhibidores

Existen diversos métodos, para la detección de BLEE's uno de ellos es el método de doble disco. Para el procedimiento se usa una placa de agar Müller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana con un patrón de turbidez ajustado al 0,5 de MescFarland, en el centro de esta se coloca un inhibidor betalactámico como el disco de amoxicilina con ácido clavulánico (Jarlier *et al.*, 1988). Alrededor de este se colocan discos que contienen distintos betalactámicos, dejando 30 mm de distancia entre todos. Después de incubar de 18 a 24 horas a 37 °C, se observa una variación en el halo de inhibición alrededor de los discos de betalactámicos, lo cual indica que la cepa inoculada produce BLEE. Posteriormente, surgen modificaciones de la prueba, aumentando la sensibilidad y reduciendo la distancia entre los discos a 20 mm (Tzelepi *et al.*, 2000).

Si la prueba indica como resultado la posible producción de BLEE por la cepa, la confirmación puede hacerse mediante las pruebas de difusión en agar, según lo recomendado por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Para ambos casos se deben usar una combinación de ácido clavulánico (30/10 μ g) con ceftazidima y cefotaxima (30 μ g por disco). La confirmación del resultado se muestra observando un incremento de 5 mm en el diámetro del halo de inhibición de cualquiera de las cefalosporinas junto al inhibidor de betalactámico con respecto al halo presentado por la cefalosporina sola (CLSI, 2017).

Álvarez, (2010) recomienda que la detección de la producción de BLEE también se puede detectar mediante la prueba de Epsilon Test, donde se compara las diferentes concentraciones predefinidas de una cefalosporina de tercera generación, frente a una combinación de esta cefalosporina con ácido clavulánico.

2.4.2 Presencia de enterobacterias BLEEs en alimentos de origen animal.

Las enterobacterias productoras de BLEE se encuentran distribuidas en todo el mundo y se ha podido evidenciar que estas enterobacterias son capaces de ser transmitidas al hombre por contacto directo, a través del consumo de carne mal cocida, o indirecto, por contaminación con heces de animales (Marshall y Levy, 2011). La existencia de estas enterobacterias en animales destinados al consumo humano señala la potencialidad de que estos microorganismos contaminen la carne durante el proceso de beneficio (Egea, 2014).

Un estudio realizado en Dinamarca en el 2004 describe el primer aislamiento de una cepa de *E. coli* productora de BLEE en una muestra de carne de ternera, este aislado provenía de una carne importada de Alemania (Jensen *et al.*, 2006). Jouini *et al.* (2007), reportaron el 26% de *E. coli* productora de BLEE en carne de res, carne de pollo, carne de pavo, carne de oveja y pescado proveniente de supermercados.

Baah *et al.* (2022) analizaron muestras de carne de res, cabra y pollo provenientes de mercados minoristas en Ghana, y determinaron un 1.3%, 0.2%, 0.2%, 0.2% y 0.2% de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea* spp., *Enterobacter cloacae* y *Serratia plymuthica* productoras de BLEE respectivamente. Asimismo, Martínez-Laorden *et al.* (2023) muestrearon 51 muestras de carne fresca de pavo a nivel minorista en España. Quienes detectaron *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE en 22 (43.14%) y tres (5.88%) muestras, respectivamente, todas las cuales fueron multirresistentes.

Ínat *et al.* (2023) encontraron que 55 (68.7 %) de 80 aislados de enterobacterias de carne molida de res y carne de pollo eran capaces de tener actividad β -lactamasa, y 38 (47.5 %) de ellos eran multirresistentes. Asimismo, determinaron que los aislados de carne molida tienen

1.2 veces más probabilidades de producir resistencia al imipenem en comparación con los aislados de carne de pollo. Andrzejczak-Grządko *et al.* (2023) analizaron 100 muestras de carne de cerdo de una planta de corte de carne en Polonia y determinaron la presencia de enterobacterias en 18 aislados, obteniendo: *Serratia* spp. (44%), *Rahnella* spp. (33%), *Hafnia* spp. (17%) y *Citrobacter* spp. (5%). Mediante el método de difusión en disco se confirmó que 13 de las 18 cepas aisladas producen BLEE (72%).

Schwaiger *et al.* (2012) muestrearon carne de pollo y cerdo en un matadero y un comercio minorista y aislaron *Escherichia coli* (n=677), *Enterobacter* spp. (n=167), *Citrobacter* spp. (n=83), *Serratia* spp. (n=116), *Klebsiella* spp. (n=125) y *Salmonella* spp. (n=89) de 500 muestras de pollo y 500 de cerdo. Asimismo, evidenciaron que *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* fueron los coliformes detectados con mayor frecuencia en muestras de matadero, mientras que la prevalencia de *Serratia* spp. fue hasta ocho veces mayor en las muestras minoristas. Además, la prevalencia de *E. coli* fue mayor en muestras de matadero, mientras que la prevalencia de otros coliformes y *Salmonella* spp. fue mayor en las muestras minoristas.

Shrestha *et al.* (2017), identificaron Enterobacterias productoras de BLEE en carnes de pollo, procedentes de mataderos, como: *Salmonella* spp. (12.6%), *Citrobacter* spp. (10.7%), *Proteus* spp. (4.9%), *Shigella* spp. (3.9%), *E. Coli* (1.9%) y *Pseudomonas* spp. (1,9%). Schill *et al.* (2017), encontraron una prevalencia de 20.6% de enterobacterias productoras de BLEE en carne fresca de cerdo en una planta procesadora de alimentos en Alemania.

Asfaw *et al.* (2023), aislaron Enterobacterias productoras de BLEE de muestras de leche fresca de vacas, yogurt, recipientes y vasos de leche, los cuales procedieron de agricultores, vendedores y cafeterías de Debre, Etiopia; donde se encontró: *Enterobacter* spp. (80%), *E. coli* (47,1%), *Klebsiella* spp. (44,4%), *Citrobacter* spp. (40%), *Proteus* spp. (20%) y *Salmonella* spp. (14,3%).

Todos estos estudios concluyen que la carne de cerdo puede ser portadora de Enterobacterias productoras de BLEE, por este motivo se debe mejorar el manejo en diferentes niveles de la producción primaria y cadena alimentaria. En primer lugar, los

antibióticos que se utilizan, en la producción de cerdos, para el tratamiento terapéutico, profiláctico y como promotor de crecimiento, han sido factores de riesgo para la presencia de Enterobacterias productoras de BLEE (Burow *et al.*, 2014).

Marrero-Moreno *et al.* (2017), encontraron aislados de enterobacterias productoras de BLEE en hisopados rectales de cerdos, manos de operarios, e instrumentos de trabajo. Esta evidencia sugiere que los cerdos pueden ser un reservorio de genes BLEE, que pueden estar contenidos en elementos móviles, que pueden diseminarse a través del contacto directo en la cadena de producción de la carne de cerdo.

La presencia de Enterobacterias productoras de BLEE en carne fresca de cerdo tiene un impacto en la cadena alimentaria, ya que puede aumentar el riesgo de transmisión directa de patógenos a los consumidores durante la manipulación, preparación y consumo de la carne cruda o insuficientemente cocida (Schill *et al.*, 2017). Esto podría dar lugar a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, como gastroenteritis, que afectarían la salud pública (Gonzales, 2019).

Se deben implementar medidas preventivas en toda la cadena de producción, desde la granja hasta el consumidor. Es importante promover prácticas de crianza animal responsable, higiene adecuada en el procesamiento y manipulación de la carne, así como la promoción de pautas para el consumo seguro de alimentos, como cocinar la carne a temperaturas adecuadas para eliminar cualquier posible contaminante. La colaboración entre veterinarios, autoridades de salud y la industria alimentaria es crucial para abordar estos desafíos y garantizar la seguridad alimentaria para todos.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración

Las muestras de carne de cerdo fueron recolectadas aleatoriamente de diversos mercados del distrito de Santiago de Surco de Lima Metropolitana. Posteriormente fueron trasladadas bajo condiciones de refrigeración (4°C), al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la FMV- UNMSM, donde se realizó el análisis microbiológico, el muestreo se realizó durante los meses noviembre a diciembre del 2020.

Se realizó el muestreo en 10 puestos de venta exclusivamente de carne de cerdo y 26 puestos de venta de carne de cerdo, res y pollo. Catorce mercados estaban expuestos al aire libre (sin techo) y catorce mercados, si presentaban techo. Asimismo, 21 puestos de venta presentaban un área de corte de loseta o acero inoxidable y en los otros 15 puestos presentaban tablas de madera desgastadas. Se evidencio la presencia de insectos (dípteros) en algunos puestos durante la recolección de muestras.

Los trabajadores de treinta puestos usaban delantales de plástico, guantes y cofias; y en seis puestos el personal solo contaba con delantal. Los utensilios, incluidos cuchillos y chairas, se encontraban en óptimas condiciones, sin embargo, muchos de los cuchillos eran limpiados con trapos usados para cortar otros tipos de carne.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Materiales

- Bolsas Ziploc (15x15cm)
- Geles refrigerantes
- Neveras de plástico
- Pinzas
- Tijeras
- Vaso precipitado
- Matraz
- Placas Petri
- Espátula de Drigalsky
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Probetas
- Asa de siembra.
- Hisopos de madera estériles
- Frascos de vidrio.
- Envases y botellas de vidrio con tapa de 300 ml estériles.
- Agua destilada.
- Regla medidora de halo de inhibición.
- Plumón marcador indeleble.
- Mascarillas.
- Guantes.
- Cofias.
- Pipetas de 1 microlitro
- Puntas desechables para pipetas
- Alcohol 96%

3.2.2 Medios de cultivo, reactivos y antibióticos

- Medio Agar Eosina y Azul de Metileno (Marca: Liofilchem, Italia)

- Medio Agar Tripteína Soya (Marca: HiMedia, India)
- Medio Agar Müller-Hilton (Marca: Britania, Argentina)
- Medio Tripteína Soya Caldo (Marca: BD, Francia)
- Solución estándar Mc Farland 0.5
- Kit EnteroPluri-Test® (Marca: Liofilchem, Italia)
- Reactivo Kovac's (Marca: Liofilchem, Italia)
- Reactivo Alfa naftol (Marca: Liofilchem, Italia)
- Reactivo Hidróxido de potasio (Marca: Liofilchem, Italia)
- Cefotaxima (CTX) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Ceftazidima (CAZ) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Ceftriaxona (CRO) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Aztreonam (ATM) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Cefpodoxima (CPD) 10 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Amoxicilina con Ácido Clavulánico (AMC) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Neomicina (N) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Cloranfenicol (C) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Tetraciclina (TE) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Lincomicina (MY) 2 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Gentamicina (CN) 10 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Enrofloxacino (ENR) 5 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Trimetoprima con Sulfametoxazol (SXT) 25 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Ácido Nalidíxico (NA) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Ciprofloxacino (CIP) 5 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Colistina (CS) 10 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Cefalexina (CL) 30 µg (Marca: Liofilchem, Italia)
- Tiras de oxidasa (Marca: Liofilchem, Italia)
- Safranina
- Lugol
- Cristal violeta

3.2.3 Equipos

- Stomacher® 400 Circulator (Marca: Seward, Reino Unido)
- Mezclador vortex Maxi Mix II Vortexer (Marca: Thermolyne, Estados Unidos)
- Autoclave (Marca: EFE clave, Perú)
- Balanza digital (Marca: Henkel, Alemania)
- Congelador, rango de temperatura: $-20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Marca: Electrolux, Suecia)
- Estufa, rango de temperatura: $55^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$ (Marca: Memmert, Alemania)
- Incubadora Incucell V (Marca: MMM Group, Chequia)
- Cámara de Flujo Laminar Purair BIO (Marca: Air Science, Estados Unidos)
- Densitómetro McFarland DEN-1B (Marca: Biosan, Letonia)
- Refrigeradora, rango: $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Marca: Daewoo, Corea del Sur)
- Destilador 2002 (Marca: GFL, Alemania)
- Mechero

3.3 Diseño experimental

3.3.1 Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra se obtuvo a través de la fórmula de estimación de proporciones para poblaciones infinitas, donde se utilizó un nivel de confianza (Z) de 90%, una precisión absoluta (d) del 13% y una proporción del estudio de la población (p) de 66.6 % según Hoang *et al.* (2019). Como resultado se obtuvo un tamaño de muestra de 36 cortes de carne fresca de cerdo. Se obtuvo una muestra por cada puesto de mercado.

$$n = \frac{Z^2 p(q)}{d^2}$$

n: Tamaño de la muestra
z: Nivel de confianza
d: Nivel de precisión absoluta
p: Proporción aproximada del fenómeno en estudio en la población de referencia
q: proporción de la población de referencia que no presenta el fenómeno en estudio

(Aguilar-Barojas, 2005)

3.4. Toma de muestra

Las muestras de carne de cerdo se obtuvieron mediante una transacción económica en la que se pagó el costo correspondiente según el peso de las piezas adquiridas. Las muestras fueron cortes frescos de pierna (35 muestras) y brazo (1 muestra) de cerdo. Los pesos de las muestras fueron de 100gr, donde se tenía que incluir la piel, grasa y músculo del bíceps femoral de la pierna y deltoides del brazo. Los vendedores colocaron las muestras en bolsas de plástico de primer uso que se les proporcionó, estas eran estériles y con cierre hermético. Luego fueron colocadas en una caja térmica conteniendo geles refrigerantes siendo trasladadas al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la FMV – UNMSM, en condiciones de refrigeración (4°C).

Para realizar la selección aleatoria, se utilizó una base de datos que comprendía un total de 28 mercados de abastos habilitados durante el periodo de muestreo, sumando un total de 46 puestos de venta de carne de cerdo, ubicados en el distrito de Santiago de Surco. Estos puestos se registraron en una hoja de cálculo de Excel y se procedió a seleccionar aleatoriamente 36 puestos para la recolección de las muestras. El cuadro 2 presenta la lista de mercados enumerados, número de puestos y número de muestras tomadas.

Cuadro 2. Procedencia de las muestras: mercado y puesto.

MUESTRAS	MERCADO	PUESTO MUESTREADO
m1	Mercado A	Puesto 1
m2	Mercado B	Puesto 1
m3	Mercado B	Puesto 3
m4	Mercado C	Puesto único
m5	Mercado D	Puesto único
m6	Mercado E	Puesto 2
m7	Mercado E	Puesto 4
m8	Mercado E	Puesto 5
m9	Mercado F	Puesto 1
m10	Mercado F	Puesto 3
m11	Mercado F	Puesto 4

m12	Mercado G	Puesto 2
m13	Mercado H	Puesto 3
m14	Mercado H	Puesto 4
m15	Mercado I	Puesto 1
m16	Mercado J	Puesto único
m17	Mercado K	Puesto 2
m18	Mercado L	Puesto único
m19	Mercado M	Puesto 2
m20	Mercado M	Puesto 3
m21	Mercado N	Puesto único
m22	Mercado Ñ	Puesto 1
m23	Mercado O	Puesto 2
m24	Mercado P	Puesto único
m25	Mercado Q	Puesto único
m26	Mercado R	Puesto 1
m27	Mercado R	Puesto 3
m28	Mercado S	Puesto único
m29	Mercado T	Puesto único
m30	Mercado U	Puesto único
m31	Mercado V	Puesto único
m32	Mercado W	Puesto único
m33	Mercado X	Puesto único
m34	Mercado Y	Puesto único
m35	Mercado Z	Puesto 2
m36	Mercado AA	Puesto 1

3.5 Proceso Experimental

3.5.1 Procesado de muestras

La metodología usada para el procesamiento microbiológico fue un protocolo descrito en el Compendio de Métodos para el Examen Microbiológico de Alimentos escrito por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) (Salfinger y Lou, 2015). Las muestras fueron homogenizadas en un Stomacher® 400 Circulator a 270 rpm durante 3 minutos. Después, se tomaron 10 g. de la carne de cerdo previamente homogenizada y se diluyó en 90 ml de agua destilada en bolsas estériles para una segunda homogenización en el Stomacher®

a 270 rpm durante 2 minutos, hasta que la muestra estuvo homogenizada y lista para el análisis (dilución 10^{-1}). Se tomó 1 ml de la dilución 10^{-1} y se inoculó en un tubo de ensayo con 9ml de agua destilada (dilución 10^{-2}), se repitió el mismo procedimiento obteniendo así un total de 3 diluciones por cada muestra.

3.5.2 Sembrado de Placas

Para el sembrado se tomó, con una micropipeta, 0.1 ml de cada una de las tres diluciones y se inoculó cada una en un agar EMB. Se sembró uniformemente cada dilución con una espátula de Digralsky y se incubó a 37°C por 24 horas. Las colonias varían en cuanto a color y textura en el medio EMB dependiendo del género y especie según indica el cuadro 3. Se seleccionaron las placas que presentaban menos de 300 colonias y más de 30 colonias, de estas placas se seleccionaron una colonia que perduró durante las diluciones. Posteriormente, las bacterias seleccionadas fueron sembradas en el agar TSA e incubadas a 37°C por 24h.

Cuadro 3. Interpretación de las características de las colonias en el agar EMB

Bacterias aisladas	Características de las colonias
<i>Escherichia coli</i>	Colonias negro-azuladas con brillo verde metálico
<i>Klebsiella</i> spp.	Colonias rosadas y mucoides
<i>Pseudomonas</i> spp.	Colonias incoloras
<i>Proteus</i> spp.	Colonias incoloras
<i>Salmonella</i> spp.	Colonias incoloras

(Liofilchem, 2020)

3.5.3 Caracterización bioquímica

Se realizó la tinción Gram y la prueba de oxidasa para verificar que las bacterias sean gramnegativas. Para la tinción Gram, se tomaron algunas colonias aisladas con un asa de siembra, las cuales fueron colocadas en una lámina porta objeto junto con una gota de agua destilada, se procedió a fijar las colonias en el mechero y luego se procedió a colocar una gota de cristal violeta en la lámina por 1 minuto y se realizó un primer lavado. Luego se colocó lugol por 30 segundos y se procedió a decolorar con alcohol acetona por 15 segundos, se realizó el segundo lavado. Finalmente se colocó safranina por 2 minutos y se realizó el tercer lavado y secado.

Una vez que se confirmó que la bacteria era Gram negativa, se procedió a realizar la prueba de oxidasa, usando las tiras de oxidasa, con el fin de verificar que la bacteria fuera oxidasa negativa. Luego se utilizó el kit EnteroPluri-Test® para identificar el género y especie de la enterobacteria. El kit EnteroPluri-Test® es un sistema de 12 sectores que contiene medios especiales que permiten identificar bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*. Este método consiste en tomar una colonia aislada del medio agar con la aguja de inoculación presente internamente en el kit, luego esta aguja se inoculara en los sectores con medios bioquímicos. El Cuadro 4 muestra las reacciones bioquímicas presentes en el kit y en el anexo 1 se encuentra el procedimiento del kit EnteroPluri-Test®.

Cuadro 4. Sectores bioquímicos e interpretación de los resultados del kit EnteroPluri-Test®

SECTORES	REACCIONES BIOQUIMICAS	COLOR DEL SECTOR	
		POSITIVO	NEGATIVO
Glucosa/Gas	Fermentación de la glucosa	amarillo	rojo
	Producción de gases	cera suelta	cera adherida
Lisina	Descarboxilación de la lisina	violeta	amarillo
Ornitina	Descarboxilación de la ornitina	violeta	amarillo
H2S/Indol	Producción de hidrogeno sulfurado	negro-marrón	beige
	Producción de indol	rosa-rojo	incolore
Adonitol	Fermentación adonitol	amarillo	rojo
Lactosa	Fermentación lactosa	amarillo	rojo
Arabinosa	Fermentación arabinosa	amarillo	rojo
Sorbitol	Fermentación sorbitol	amarillo	rojo
VP	Producción de acetoína	rojo	incolore
Dulcitol/PA	Fermentación del dulcitol	amarillo	verde
	Deaminación de la fenilalanina	marrón oscuro	verde
Urea	Hidrolisis de la urea	purpura	beige
Citrato	Utilización del citrato	azul	beige

(EnteroPluri-Test®, 2020)

Los kits fueron incubados durante 24 horas a 37°C. Para la lectura se agregaron tres gotas del reactivo de Kovacs en el sector H2S/Indol, tres gotas de α -naftol, y dos gotas de hidróxido de potasio (KOH) en el sector Voges- Proskauer (VP). Después de 15 segundos de aplicación

de los reactivos se realizó las lecturas. La identificación de las bacterias se realizó mediante un código de 5 dígitos, usando el Codebook del kit EnteroPluri-Test®. Los aislados fueron criopreservados en viales de 2.5 ml utilizando caldo Tripteína Soya Caldo (TSB) y glicerol al 87% en una proporción 50/50, y posteriormente fueron almacenados en el cepario del Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental a -20°C (Monteroso *et al.*, 2019).

3.5.4 Prueba fenotípica para la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Se realizó un primer análisis de susceptibilidad (método de difusión simple o conocido como método Kirby-Bauer) según el protocolo propuesto por el CLSI y autores de referencia (CLSI, 2017; Perozo Mena *et al.*, 2017). Para ello, se preparó un inóculo bacteriano, con una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de Mc Farland, se sembró en agar Müller Hinton™, para identificar las enterobacterias sospechosas de producir BLEE, con el fin de garantizar la viabilidad del antibiograma se utilizó un densitómetro. Se realizó un segundo análisis de susceptibilidad (método de doble disco o conocido como método de Jarlier) bajo las mismas condiciones que el primer análisis. Para el método de difusión simple se utilizó los siguientes discos de antibióticos: cefotaxima (CTX) 30 μ g, ceftazidima (CAZ) 30 μ g, ceftriaxona (CRO) 30 μ g, aztreonam (ATM) 30 μ g, cefpodoxima (CPD) 10 μ g. Asimismo, para realizar el método de doble disco se utilizó los mismos antibióticos con adición de un disco de amoxicilina con ácido clavulánico (AMC) 30 μ g, este se colocó al centro del agar y alrededor de los otros discos, estos colocados a una distancia promedio de 25 mm con respecto al disco del centro (Lezameta *et al.*, 2010). Los diámetros de inhibición bacteriana se pueden observar en el Cuadro 5. El resultado de positividad se evidenció por la presentación del efecto de sinergia (también llamado efecto huevo o cola de pez) entre el disco de amoxicilina con ácido clavulánico y los discos circundantes.

Cuadro 5. Diámetros de halos de inhibición de β -lactámicos para el análisis de susceptibilidad Kirby-Bauer

Antibiótico	Concentración	Diámetro de inhibición
Cefpodoxima	10 μ g.	≤ 17 mm

Ceftazidima	30 µg.	≤ 22 mm
Aztreonam	30 µg.	≤ 27 mm
Cefotaxima	30 µg.	≤ 27 mm
Ceftriaxona	30 µg.	≤ 25 mm

(CLSI, 2017)

3.5.5 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

Se realizó el perfil de resistencia antibiótica a todas las cepas de enterobacterias según el protocolo propuesto por el CLSI (CLSI, 2021). Las cepas aisladas se reactivaron mediante inoculación en TSB e incubados a 37° C por 18 a 24 horas hasta que se observó turbidez.

La determinación del perfil de resistencia se realizó con el método de Kirby Bauer, las cepas de enterobacterias fueron sembradas en agar Mueller-Hinton, y se enfrentaron a los siguientes antibióticos: colistina (CS 10 µg), cefalexina (CL 30 µg), ciprofloxacino (CIP 5 µg), cloranfenicol (C 30 µg), enrofloxacin (ENR 5 µg), gentamicina (CN10 µg), lincomicina (MY 2 µg), ácido nalidíxico (NA 30 µg), neomicina (N 30 µg), sulfametoxazol-trimetoprim (SXT 1.25/23.75 µg) y tetraciclina (TE 30 µg). Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 horas. El halo de inhibición resultante permitió interpretar el grado de resistencia microbiana como cepas sensibles, intermedias o resistentes (CLSI, 2021).

Cuadro 6. Diámetros de halos de inhibición de los antibióticos de diferentes familias.

Antibiótico	Concentración	Diámetro de inhibición
Neomicina	30 µg.	≤ 12 mm
Cloranfenicol	30 µg.	≤ 12 mm
Tetraciclina	10 µg.	≤ 11 mm
Lincomicina	2 µg.	≤ 14 mm
Gentamicina	10 µg.	≤ 12 mm

Enrofloxacino	5 µg.	≤ 16 mm
Trimetoprima/Sulfametoxazol	25 µg.	≤ 10 mm
Ácido Nalidíxico	30 µg.	≤ 13 mm
Ciprofloxacino	5 µg.	≤ 21 mm
Colistina	10 µg.	≤ 8 mm
Cefalexina	30 µg.	≤ 14 mm

(CLSI, 2021)

3.6 Análisis de datos

Los resultados, fueron registrados en base a porcentajes en hojas de cálculo de Microsoft Excel.

IV. RESULTADOS

Se analizaron un total de 36 muestras. El 86.12% (31/36) de las cepas aisladas pertenecieron a la familia *Enterobacteriaceae*, distribuidas de la siguiente forma: 25% (9/36) *K. pneumoniae*, 16.7% (6/36) *K. ozaenae*, 13.9% (5/36) *E. coli*, 8.3% (3/36) *C. freundii*, 8.3% (3/36) *E. aerogenes*, 5.6% (2/36) *P. agglomerans*, 2.8% (1/36) *S. liquefaciens*, 2.8 % (1/36), 2.8% (1/36) de *S. odorífera*, y 2.8% (1/36) de *E. gergovia*.

Se determinó que el 64.52 % (20/31) de enterobacterias son positivas fenotípicamente a la producción de BLEE (Cuadro 5). Se identificó 12.9% (4/31) de *K. pneumoniae*, 12.9% (4/31) de *K. ozaenae*, 12.9% (4/31) de *E. coli*, 9.7% (3/31) *C. freundii*, 9.7% (3/31) *E. aerogenes*, 3.2% (1/31) de *P. agglomerans*, y 3.2% (1/31) de *E. gergovia*. No se detectó producción de BLEE en las cepas de *S. liquefaciens* y *S. odorífera*.

Cuadro 7. Proporción de cepas sospechosas de producir BLEE y cepas confirmadas mediante análisis de susceptibilidad.

Nº	Identificación	Sospechosas (Método Kirby-Bauer)	Confirmadas (método de doble disco)
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
2	<i>Escherichia coli</i>	1	1
3	<i>Pantoea agglomerans</i>	1	
4	<i>Citrobacter freundii</i>	1	1

5	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	1
6	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1
7	<i>Escherichia coli</i>	1	1
8	<i>Escherichia coli</i>	1	1
9	<i>Serratia liquefaciens</i>	1	
10	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	1
11	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	
12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
13	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	
14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1
15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1
16	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1
17	<i>Escherichia coli</i>	1	1
18	<i>Citrobacter freundii</i>	1	1
19	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1	1
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
21	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1
22	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		1
23	<i>Escherichia coli</i>	1	
24	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	
25	<i>Serratia odorifera</i>	1	
26	<i>Citrobacter freundii</i>		1
27	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1
28	<i>Enterobacter gergovia</i>		1
29	<i>Pantoea aglomerans</i>		1
30	<i>Klebsiella ozaenae</i>		1

TOTAL (26/31) 83,87% (20/31) 64,52%

Cuadro 8. Resultado del perfil de resistencia de cepas de enterobacterias aisladas de carne de cerdo frente a 11 antibióticos.

Muestra	N 30	C 30	TE 10	MY 2	CN 10	ENR 5	SXT 25	NA 30	CP 5	CS 10	CL 30
1	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
2	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S
3	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
4	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
5	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S
6	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
7	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S
8	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
9	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
10	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
11	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
12	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
13	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	S
14	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S
15	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
16	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
17	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
18	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S

19	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
20	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
21	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
22	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
23	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S
24	S	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S
25	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
26	S	S	R	R	S	S	R	R	S	R	S
27	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
28	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
29	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
30	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S
31	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S

N: neomicina; C: cloranfenicol; TE: tetraciclina; MY: lincomicina; CN: gentamicina; ENR: enrofloxacin, SXT: sulfametoxazol-trimetoprim; NA: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacino; CS: colistina; CL: cefalexina. S: sensible, R: resistente.

El 96.8 % (30/31) de las cepas presentaron resistencia frente a lincomicina, seguido por tetraciclina (74.2%) y sulfametoxazol-trimetoprima (58.1%), mientras que el 93.5% (29/31) cepas presentaron sensibilidad a cefalexina (Figura 5 y Cuadro 7). Se evidenció que las muestras 6 (*Enterobacter aerogenes*), 8 (*Escherichia coli*), 9 y 19 (*Klebsiella ozaenae*) fueron resistentes a 9 antibióticos, y susceptibles a neomicina y cefalexina, neomicina y cefalexina, gentamicina y colistina, y colistina y cefalexina, respectivamente.

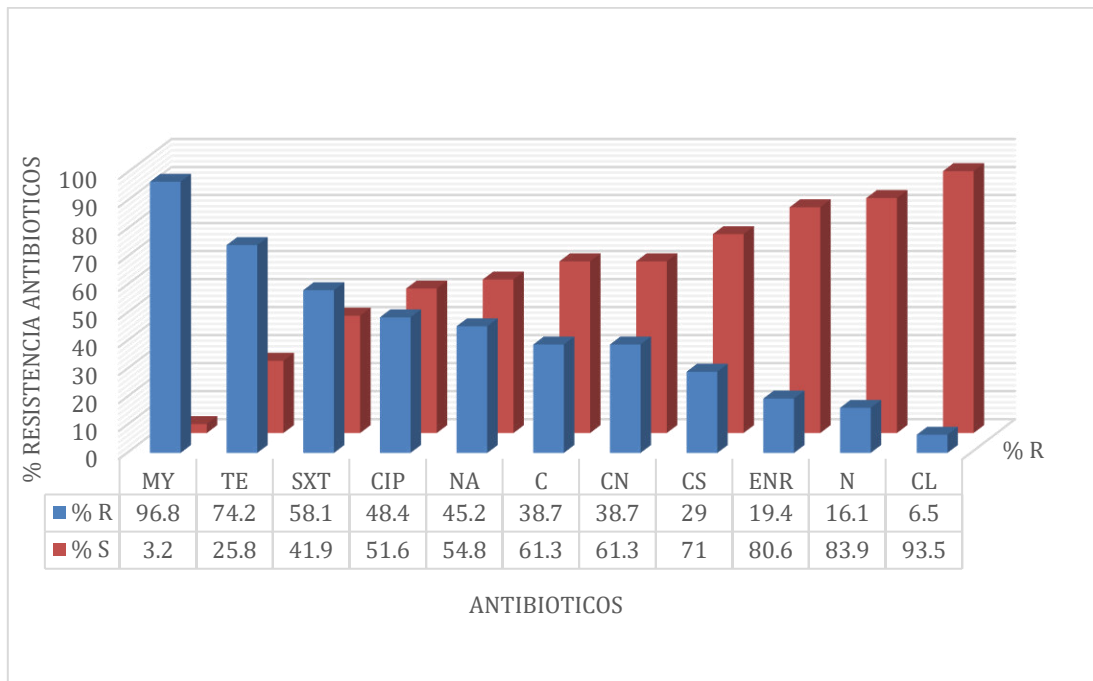


Figura 5. Distribución porcentual de la resistencia y sensibilidad de cepas de enterobacterias aisladas de carne de cerdo procedentes de mercados (n=31) frente a 11 antibióticos. N: neomicina; C: cloranfenicol; TE: tetraciclina; MY: lincomicina; CN: gentamicina; ENR: enrofloxacina, SXT: sulfametoxazol-trimetoprim; NA: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacino; CS: colistina; CL: cefalexina. S: sensible, R: resistente.

V. DISCUSIÓN

Se puede sugerir que la presencia de enterobacterias en carne fresca de cerdo se deba a una contaminación cruzada con carnes de cerdo y/o otras especies como carne de pollo y res sometidas a malas prácticas de almacenamiento (Srichumporn *et al.*, 2022; Schwaiger *et al.*, 2012). Asimismo, se puede sugerir que los operarios/vendedores no presentaban buenas prácticas de higiene durante la venta, como el no lavarse las manos después de ir al baño, y de esta manera contaminar la carne con restos fecales humanos (Marrero-Moreno *et al.*, 2017). A nivel de matadero, pudo haber un inadecuado eviscerado durante el beneficio, y las heces de los cerdos pudieron haber contaminado las canales de cerdos, que tiene como destino a los mercados locales (Kanokudom *et al.*, 2021).

Otro factor importante es la falta de buenas prácticas de almacenamiento y transporte de canales de cerdo desde el matadero hasta los mercados, ocasionando contaminación del producto. Además, si el matadero no tiene implementado Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), es probable que las canales de cerdo se contaminen durante el beneficio y el transporte.

Los hallazgos del presente trabajo son importantes, debido a que se ha evidenciado la presencia de enterobacterias patógenas para el humano en la carne de cerdo que se expenden en los mercados tradicionales de Lima. Las enterobacterias detectadas con mayor frecuencia fueron *K. pneumoniae* (25%) y *K. ozaenae* (16.7%). *K. pneumoniae* es un patógeno oportunista que produce enfermedades infecciosas en las personas como bacteriemias causadas por infecciones a nivel del sistema urinario y respiratorio (Wang *et al.*, 2020).

Asimismo, *K. ozaenae* es una bacteria oportunista y de baja virulencia que, en algunos casos, puede desencadenar una infección invasiva grave como meningitis y sepsis, además de que puede producir enfermedades atípicas en el humano como la rinitis atrófica primaria (Wu *et al.*, 2020).

La tercera bacteria más frecuente reportada en este trabajo fue *E. coli* (13.9%), siendo esta una enterobacteria comensal frecuente del tracto gastrointestinal tanto de animales como de humanos. Asimismo, es responsable de muchas enfermedades que pueden producir infecciones generalizadas, urinarias y digestivas (Allocati *et al.*, 2013). También se encontró *Citrobacter freundii*, la cual está relacionada con la contaminante ambiental siendo de baja virulencia; sin embargo, se conoce que puede producir una serie de infecciones que puede involucrar el tracto urinario, hígado, peritoneo, intestinos, meninges, y el torrente sanguíneo (Liu *et al.*, 2018).

En menor frecuencia se ha evidenciado a *Enterobacter aerogenes*, la cual ha adquirido importancia clínica por ser una bacteria oportunista, habiendo sido aislada en los nosocomios sobre todo en pacientes de cuidados intensivos como aquellos que se encuentran conectados a ventilación mecánica (Davin-Regli y Pagès, 2015). Otra bacteria evidenciada es *Pantoea agglomerans* la cual se encuentra en el medio ambiente y zonas agrícolas aislándose en plantas, suelo, agua y alimentos. Además, es una bacteria patógena oportunista y para causar infección requiere que el huésped se encuentre inmunodeprimido (Büyükcım *et al.*, 2018).

Otras enterobacterias reportadas en menor frecuencia fueron las del género *Serratia spp.* las cuales están involucradas en varias enfermedades infecciosas y pueden ser aisladas en muestras clínicas, por ser patógenas. Sin embargo, los pacientes inmunodeprimidos muy susceptibles a ella, pudiéndoles ocasionar neumonía, bacteriemia y endocarditis en aquellos que se encuentran hospitalizados (Menezes *et al.*, 2004). Finalmente, también se evidencio a *E. gergovia*, pero en menor porcentaje. Esta bacteria es produce infecciones nosocomiales, habiendo sido aislada en muestras ambientales y clínicas. Asimismo, se considera que puede ocasionar sepsis e infecciones del tracto urinario (Stock y Wiedemann *et al.*, 2002).

Ruiz-Roldán *et al.* (2018), analizaron carne de cerdo en mercados tradicionales de Lima

y encontraron *E. coli* (80%) como el género bacteriano más frecuente, en nuestro estudio el género más frecuente fue *Klebsiella* spp. La alta frecuencia de *Klebsiella* spp. se puede deber a que este patógeno constituye parte de la flora humana y animal normal y, por lo tanto, el aislamiento de cepas de *Klebsiella* spp. en muestras de alimentos no está necesariamente relacionado con la transmisión de infecciones. Sin embargo, su detección en la cadena alimentaria puede ser indicativa de prácticas no higiénicas de preparación y manipulación de alimentos, y condiciones de almacenamiento subóptimas, que fueron observados en los mercados muestreados. Además, Ruiz-Roldán *et al.* (2018) presentaron un mayor tamaño muestral (138) y recolectaron carne de distintas especies (res, pollo y cerdo) de mercados provenientes de 5 distritos de Lima Metropolitana (Comas, San Martín, La Victoria, Cercado de Lima y Villa El Salvador).

Asimismo, Ruiz-Roldán *et al.* (2018), reportaron que el 95%, 90%, 59.1% y 54.5% de las cepas de *E. coli* fueron resistentes a ampicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico y sulfametoxazol-trimetoprim respectivamente. En nuestro estudio obtuvimos el 100%, 80% y 80% de las cepas de *E. coli* resistentes a sulfametoxazol-trimetoprim, tetraciclina, y ácido nalidíxico respectivamente. Este incremento de la resistencia antimicrobiana puede deberse a la continua presión selectiva ejercida, a lo largo de los años, por el uso inapropiado y excesivo de antibióticos, transmisión de genes y la falta de desarrollo de nuevos antibióticos (Alos, 2014).

Además, es importante mencionar que cuatro cepas de *E. coli* fueron multidrogorresistentes. La presencia de estas cepas multidrogorresistentes presentes en la carne es un problema preocupante de salud pública. Tanto Ruiz-Roldán *et al.* (2018) como nuestro estudio indicamos que los altos niveles de resistencia se debe posiblemente el uso indiscriminado de diferentes familias de antibióticos, para el tratamiento y profilaxis en animales de abasto. Igualmente, nuestro estudio encontró altos niveles de resistencia, y es posiblemente causado a la falta de control y supervisión del uso de antibióticos en la producción de animales destinados para el consumo humano, cuyo riesgo puede aumentar cuando los antibióticos se usan por un tiempo prolongado.

La presencia de enterobacterias productoras de BLEE en carne de cerdo es un riesgo para

la salud humana. El uso inadecuado de antibióticos, no solo en la medicina humana sino también en la crianza de animales, se ha considerado uno de los principales factores que conducen al aumento de bacterias multirresistentes (Chantziaras *et al.*, 2014). Los resultados del presente estudio sugieren que los animales productores de alimentos, como los cerdos, son una fuente potencial de transmisión de bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido a los humanos, por consumo de carne contaminada, lo que lleva a la colonización del tracto intestinal y eventualmente a infecciones graves, lo que provocaría infecciones difíciles de tratar en los seres humanos (Lazarus *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se determinó un 64.52 % (20/31) de enterobacterias positivas fenotípicamente a la producción de BLEE presentes en carne de cerdo expendida en mercados. La producción de BLEE es el principal mecanismo de resistencia a los antibióticos en enterobacterias, y las cepas productoras de BLEE están muy extendidas a nivel mundial, siendo un problema de salud pública. Sin embargo, existen pocos estudios que reporten bacterias productoras de BLEE en carne de cerdo de mercados en Perú. Aguilar-Martínez *et al.* (2022), asociaron el consumo de carne de cerdo con la mayor probabilidad de que una persona sea portadora de enterobacterias productoras de BLEE. Probablemente, la presencia de enterobacterias BLEE en carne de cerdo, está asociada a una contaminación cruzada producida durante la manipulación de la carne (corte, molido, etc.), lo cual facilitaría la diseminación de estas bacterias a otros alimentos y superficies inertes, pudiendo llegar por varias vías finalmente al hombre y al intestino de las personas.

Leistner *et al.* (2013), evalúan pacientes de un hospital de Alemania (Berlín) con diferentes tipos de infecciones y luego de realizar un análisis multivariable, determinan la asociación del consumo de carne de cerdo (con una frecuencia mayor a 3 consumos por semana) y la colonización de BLEE a nivel intestinal y del sistema urinario. En Perú Aguilar-Martínez *et al.* (2022), evaluaron pacientes del Hospital Regional de Lambayeque y encontraron asociación entre el consumo de carne de cerdo y la presencia de *E. coli* BLEE en el recto. Esto se puede deber a un mayor consumo de carne de cerdo, el cual se viene incrementando en los últimos años (en Lima Metropolitana en el año 2021 ascendió a 4.79 kg/hab./año y se espera que llegue a 5.57 kg/hab/año en el año 2027) (DGESEP y DEA,

2019; MINAGRI, 2017). Asimismo, puede estar asociado a una contaminación cruzada ya sea en el lugar de expendio o a nivel de los hogares. Por ello, los resultados de nuestro estudio deben concientizar a las autoridades competentes para que los mercados tradicionales empleen buenas prácticas de manipulación de los alimentos.

Los cerdos pueden ser portadores de enterobacterias productoras de BLEE, incluso sin mostrar ningún signo clínico de enfermedad, son posibles reservorios de enterobacterias productoras de BLEE las cuales pueden transferirse a las personas a través de la cadena alimentaria ya sea por una manipulación incorrecta o una cocción insuficiente de la carne (Bergšpica *et al.*, 2020). Sin embargo, puede haber otras rutas de transmisión. Por ello, es necesario promover estudios en enterobacterias productoras de BLEE en el interfaz humano-animal-ambiente para exponer las rutas de transmisión de estas bacterias resistentes y genes de resistencia circulantes en el Perú.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) (2019), reportaron una prevalencia que varió 0% (Luxemburgo, Suecia, Finlandia, el Reino Unido, Islandia y Noruega) hasta 11.1% (Malta) de *E. coli* productora de BLEE en carne de cerdo, recolectada en mercados tradicionales durante el año 2015. Asimismo, en el año 2017 la prevalencia de *E. coli* con fenotipos BLEE en los estados miembros de la Unión Europea (UE), Noruega, Islandia y Suiza a partir de muestras de carne de cerdo fue del 4.2%. Ellos indican que las bajas frecuencias encontradas para enterobacterias productoras de BLEE, se puede deber a que existe un control y vigilancia continuo de los mercados. Si bien nuestro país cuenta con un “Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos”, la falta de implementación efectiva, presiones económicas, disparidad de recursos y falta de cumplimiento son factores por el cual los objetivos estratégicos del plan no se cumplen.

Boonyasiri *et al.* (2014), evaluaron mercados de Tailandia y reportaron que un 53.3 % de las bacterias aisladas pertenecían al género *Enterobacteriaceae* y el 61.5 % de estas fueron *E. coli* productoras de BLEE. Además, encuentran una frecuencia de 44.4% de *Klebsiella spp.* productora de BLEE. Estos porcentajes altos, son similares a los reportados en nuestro estudio y esto se debe probablemente a que en nuestras medias las condiciones a nivel de los

mercados son similares a las que existen en Tailandia. Así tenemos, que algunos puestos de los mercados que fueron muestreados en nuestro estudio presentaban operarios de venta que no contaban con implementos completos. Asimismo, algunos puestos contaban con una tabla de picar de madera, otros puestos no contaban con tabla de picar y realizaban los cortes de carne en la superficie de cemento o mayólica del puesto, donde se realizaba la venta. Además, se pudo observar que en todos los puestos solo utilizaban un cuchillo para sus operaciones, que se limpiaba con un paño que no se lavaba ni desinfectaba durante todo el día. Estas malas prácticas pueden ayudar a diseminar las enterobacterias productoras de BLEE y pueden ser consideradas como un factor de riesgo para la adquisición de estas bacterias por los consumidores.

Nuestro estudio usó 9 grupos de antibióticos: lincosamidas (lincomicina), tetraciclinas, sulfonamidas (sulfametoxazol-trimetoprim), fluoroquinolonas (ciprofloxacino, enrofloxacino), quinolona (ácido nalidíxico), fenicoles (cloranfenicol), aminoglucósidos (gentamicina y neomicina), polimixina (colistina) y cefalosporina (cefalexina) (CLSI, 2023). Se evidenció 24 enterobacterias multidrogorresistentes aislados en carne de cerdo, estos resultados son preocupantes para la salud pública.

Li *et al.* (2016) reportaron un 7.1% de enterobacterias productoras de BLEE en carne de cerdo proveniente de mercados de Guangzhou en China. Todas las enterobacterias productoras de BLEE aisladas fueron resistentes a ceftazidima, cefotaxima, ampicilina y tetraciclina. Además, el 5.3%, 10.5%, 5% y 15.68% fueron resistentes a cefepima, cefoperazona, cloranfenicol y ampicilina/sulbactam respectivamente. En nuestro estudio el 80% (16/20) de las enterobacterias productoras de BLEE fueron multidrogorresistentes, siendo el 93.8% (15/16) resistentes a lincomicina, 75% (12/16) resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima y el 68.8% (11/16) resistentes a ciprofloxacino y tetraciclina. El alto porcentaje de resistencia a lincomicina se puede deber a que actualmente, lincomicina se vende en diferentes casas farmacéuticas veterinarias para el uso en la producción porcina peruana. Este fármaco se utiliza como promotor de crecimiento, para prevención y control de enfermedades y como terapéutico para el tratamiento del Síndrome de Mastitis Metritis Agalactia (MMA), Micoplasmosis, Salmonelosis, y Enteropatía Proliferativa Porcina (EPP). Es importante

mencionar que lincomicina es usada en medicina humana para el tratamiento de sinusitis aguda e infecciones del tracto respiratorio inferior (Montiel *et al.*, 1988).

Nuestro estudio evidencio resistencia a tetraciclina en enterobacterias (74.2%) y enterobacterias productoras de BLEE (68.8%). Estos resultados son preocupantes ya que este antibiótico es utilizado en humanos para el tratamiento de brucelosis, cólera, enfermedad de Lyme, sífilis, uretritis, cervicitis, gastritis asociadas a *Helicobacter pylori*, e infección del tracto respiratorio inferior causado por resistencia a neumococo (Vicente y Pérez-Trallero, 2010). Sin embargo, la resistencia a la tetraciclina provocaría fallas en el tratamiento y consecuentemente muerte en los pacientes. Además, nuestro estudio obtuvo que el total de cepas fueron sensibles a cefalexina, estos resultados difieren de los hallazgos realizados por Srichumporn *et al.* (2022), quienes reportaron que el total de enterobacterias productoras de BLEE eran resistentes a cefalexina. Esto puede deberse probablemente a que las enterobacterias productoras de BLEE no necesariamente son resistentes a todas las cefalosporinas, se sabe que la cefalexina es una cefalosporina de primera generación y no suele ser el sustrato principal para las BLEE a diferencia de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, ya que son más activas contra un grupo limitado de bacterias (Navarro *et al.*, 2011). Por otro lado, nuestro estudio identificó fenotípicamente la presencia de BLEE en enterobacterias, sin embargo, esto no es indicador de que las bacterias posean genes en resistencia para determinados antibióticos como la cefalexina.

Otro hallazgo de nuestro estudio fue obtener resistencia al cloranfenicol en una frecuencia del 38.7% para enterobacterias, y de 43.8% en cepas de enterobacterias productoras BLEE. El estado peruano desde el año 2013, prohíbe la importación, comercialización y uso en la fabricación de productos veterinarios o alimentos para animales destinados al consumo humano, del cloranfenicol, mediante Resolución Directoral N.º 0072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA, esto debido a que es un compuesto cancerígeno y existen evidencias de que tiene un mecanismo genotóxico (Correa-Núñez *et al.*, 2021). Sin embargo, a pesar de la prohibición se sigue utilizando en la producción de animales de abasto, ya que también se ha reportado en ganglios mesentéricos de cerdos beneficiados en un matadero de Lima Metropolitana (Ríos *et al.*, 2019).

Por otro lado, nuestro estudio encontró un 29% (9/31) de resistencia a la colistina en el total de cepas de enterobacterias y el 43.8% (7/20) en cepas de enterobacterias productoras de BLEE, estos resultados causan alarma, porque la colistina es un antibiótico usado en personas para combatir infecciones causadas por bacterias (*Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*) resistentes a múltiples fármacos. Por ello, es considerado como el último recurso para el tratamiento de pacientes con infecciones multidrogoresistentes (Iglesias-Osores, 2020). La colistina se ha utilizado en medicina veterinaria como sulfato de colistina durante décadas, principalmente como promotor de crecimiento y tratamiento de infecciones (Kempf *et al.*, 2016). En nuestro país ha sido prohibido su uso y de sus derivados mediante Resolución Directoral N° 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA en la producción de animales destinados a consumo humano (Iglesias-Osores, 2020). Sin embargo, los hallazgos encontrados se pueden deber a que se sigue utilizando la colistina en medicina veterinaria, como profiláctico o tratamiento en animales para el consumo humano, como lo reportado por Asencios (2021), quien evidenció resistencia a la colistina en *E. coli* aislados de heces de cerdo proveniente de granjas tecnificadas de Lima.

Según el Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) el método ideal para evaluar la susceptibilidad a la colistina es por el Método de Dilución en Caldo, cuyo objetivo es determinar la concentración mínima que inhibe visiblemente el crecimiento bacteriano, si bien nuestro estudio no uso el método recomendado por falta de disponibilidad de recursos. Sin embargo, se visualizó resistencia a pesar de que la colistina expresa limitada difusión en medios solidos por ser una molécula grande (Uwizeyimana *et al.*,2020).

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Existe presencia de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en carne de cerdo expendida en mercados de un distrito de Lima-Metropolitana.
- ✓ Existe enterobacterias multidrogorresistentes aisladas en carne de cerdo expendida en mercados de un distrito de Lima-Metropolitana.

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios sobre la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en carnes de otras especies de animales de abasto.
- ✓ Realizar estudios sobre la presencia de enterobacterias productora de BLEE en trabajadores de mercados tradicionales.
- ✓ Realizar vigilancia continua con estudios seriados sobre presencia de enterobacterias productora de BLEE en carne cerdo en mercados y supermercados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aguilar-Barojas S. 2005.** Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco* 11(1): 333-338.
2. **Aguilar-Martínez SL, Suclupe-Campos DO, Guevara-Vásquez GM, Failoc-Rojas VE, Aguilar-Gamboa FR. 2022.** Factores asociados a la colonización rectal por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de un hospital del norte del Perú. *Revista del Cuerpo Médico del Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo* 15 (1): 46-52. Doi: <https://dx.doi.org/10.35434/rmhnaaa.2022.151.965>
3. **Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. 2013.** *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health* 10(12): 6235–6254. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
4. **Alós JI. 2014.** Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 33 (10): 692-699. Doi: [10.1016/j.eimc.2014.10.004](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004)
5. **Álvarez D. 2010.** Identificación de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 9(4): 516-524.
6. **Andrzejczak-Grządka S, Buda N, Mamczur A, Kamizielak S. 2023.** Characteristic of extended substrate spectrum beta lactamases producing Enterobacteriales isolated from pork meat. *Postepy biochemii* 69(2): 81–88. https://doi.org/10.18388/pb.2021_484
7. **Angles E. 2018.** Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana ¿hacia dónde vamos? *Revista Médica Herediana* 29(1): 3. Doi: <https://doi.org/10.20453/rmh.v29i1.3253>
8. **Asencios S. 2021.** Caracterización genómica de aislados de *Escherichia coli* multidrogoresistentes obtenidos de cerdos bajo crianza intensiva en Lima Metropolitana. Tesis de Bióloga Genetista Biotecnóloga. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 61 p.

9. **Asfaw T, Genetu D, Shenkute D, Shenkutie TT, Amare YE, Habteweld HA, Yitayew B. 2023.** Pathogenic Bacteria and Their Antibiotic Resistance Patterns in Milk, Yoghurt and Milk Contact Surfaces in Debre Berhan Town, Ethiopia. *Infection and drug resistance* 16: 4297–4309. Doi: <https://doi.org/10.2147/IDR.S418793>
10. **Baah DA, Kotey FCN, Dayie NTKD, Codjoe FS, Tetteh-Quarcoo PB, Donkor ES. 2022.** Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria Contaminating Raw Meat Sold in Accra, Ghana. *Pathogens* 11(12): 1517. Doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens11121517>
11. **Baylis C, Uytendaele M, Joosten H, Davies A. 2011.** The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. ILSI Europe Report. 48p.
12. **Becker B, Cooper MA. 2013.** Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS chemical biology* 8(1): 105–115. Doi: <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
13. **Bergšpica I, Kaprou G, Alexa EA, Prieto M, Alvarez-Ordóñez A. 2020.** Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) Producing *Escherichia coli* in Pigs and Pork Meat in the European Union. *Antibiotics* 9(10): 678. Doi: [10.3390/antibiotics9100678](https://doi.org/10.3390/antibiotics9100678)
14. **Bonelli RR, Moreira BM, Picão RC. 2014.** Antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* in South America: History, current dissemination status and associated socioeconomic factors. *Drug Resistance Updates* 17(1-2): 24–36. Doi: [10.1016/j.drup.2014.02.001](https://doi.org/10.1016/j.drup.2014.02.001)
15. [10.1016/j.drup.2014.02.001](https://doi.org/10.1016/j.drup.2014.02.001)
16. **Boonyasiri A, Tangkoskul T, Seenama C, Saiyarin J, Tiengrim S, Thamlikitkul V. 2014.** Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected areas in Thailand. *Pathogens and global health* 108(5): 235–245. Doi: <https://doi.org/10.1179/2047773214Y.0000000148>
17. **Burow E, Simoneit C, Tenhagen BA, Käsbohrer A. 2014.** Oral antimicrobials increase antimicrobial resistance in porcine *Escherichia coli* - a systematic review. *Prev Vet Med* 113: 364-375. Doi: [10.1016/j.prevetmed.2013.12.007](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.12.007)
18. **Bush K. 1989.** Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 259-263. Doi: [10.1128/aac.33.3.259](https://doi.org/10.1128/aac.33.3.259)
19. **Büyükcım A, Tuncer Ö, Gür D, Sancak B, Ceyhan M, Cengiz AB, Kara A. 2018.** Clinical and microbiological characteristics of *Pantoea agglomerans* infection in children. *Journal of infection and public health*, 11(3), 304–309. Doi: [10.1016/j.jiph.2018.03.007](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.03.007)

<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.07.020>

20. **Carattoli A. 2008.** Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clin Microbiol Infect* 14(1): 117-123. Doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01851.x
21. **Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. 2014.** Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food producing animals: a report on seven countries. *J Antimicrob Chemother* 69(3): 827-34.
22. **Clinical & Laboratory Standards Institute. 2017.** M1000 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Seven Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute. 950 p.
23. **Clinical & Laboratory Standards Institute. 2021.** M1000 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Thirty-one Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute. 951 p.
24. **Clinical & Laboratory Standards Institute. 2023.** M1000 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Thirty-three Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute 955 p.
25. **Correa-Núñez G, Rojas J, Morgan E, Chate Pérez E. 2021.** Nitrofuranos y cloranfenicol, sustancias prohibidas para su uso en animales, presentes en alimentos agropecuarios primarios en el Perú (2011 - 2018). *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* 5(2): 2067-2080. Doi: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.418
26. **Davin-Regli A, Pagès JM. 2015.** *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in microbiology* 6: 392. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>
27. **[DIGEMID] Dirección General de Medicamentos e Insumos de Drogas. 2019.** El plan multisectorial para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos. [Internet] [15 enero 2021]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/315424/Decreto_Supremo_010-2019-SA.PDF
28. **[DGESEP] Dirección General de Seguimiento y Evaluación de Políticas, [DEA] Dirección de Estadística Agraria. 2019.** Plan Nacional de desarrollo ganadero 2017-2027. Serie de Informes Técnicos.41p

29. **Egea Miranda MP. 2014.** Caracterización de asilados de *E. coli* de origen clínico y alimentario productores de betalactamasas de espectro extendido. Tesis de Doctor en Biología. Sevilla, España. 270 p
30. **[EFSA] European Food Safety Authority. and European Centre for Disease Prevention and Control. 2019.** “The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals, and food in 2017. *EFSA journal* 17: 2. Doi: 10.2903/j.efsa.2019.5598
31. **Falcon N, Ortega C, Gorniak S, Villamil LC, Rios C, Simón MC. 2010.** El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública: Una Salud. *Revista Sapuvet de Salud Pública* 1(1): 75–88. [Internet], [28 marzo 2020]. Disponible en: <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/us/article/view/235>
32. **Farfán-García AE, Ariza-Rojas SC, Vargas-Cárdenas FA, Vargas-Remolina LV. 2016.** Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista chilena de infectología* 33(4): 438-450. Doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>
33. **Fisher JF, Moobashery S. 2009.** Three decades of the class A β -lactamase acyltransferase. *Curr Protein Pept J Sci* 10:401-407.
34. **González J, Maguiña C, González FM. 2019.** La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Med Peru* 36(2):145-51.
35. **Ghuysen JM. 1991.** Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annual review of microbiology* 45: 37–67. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.45.100191.000345>
36. **Hart M, Espinosa F. 2008.** Resistencia antimicrobiana de bacilos gramnegativos. *Rev. Cubana Med* 47(4). [Internet] [30 enero 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232008000400001&lng=en
37. **Hoang T, Nguyen, T, Ueda S, Le Q, Tran T, Nguyen T, Dao T, Tran M, Le T, Le T, Nakayama T, Hirai I, Do T H, Vien Q, Yamamoto Y. 2019.** Correction to: Common findings of bla CTX-M-55-encoding 104–139 kbp plasmids harbored by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in pork meat, wholesale

- market workers, and patients with urinary tract infection in Vietnam. *Current Microbiology* 76(8): 962. Doi: 10.1007/s00284-017-1395-7
38. **Hu Y, Anes J, Devineau S, Fanning S. 2020.** *Klebsiella pneumoniae*: Prevalence, Reservoirs, Antimicrobial Resistance, Pathogenicity, and Infection: A Hitherto Unrecognized Zoonotic Bacterium. *Foodborne Pathog Dis* 18(2): 63-84. Doi: 10.1089/fpd.2020.2847
 39. **Iglesias-Osores Sebastian. 2020.** Uso de colistina en el sector pecuario: necesidad de una prohibición global. *Acta Médica Peruana* 37(1): 114-115. Doi: <https://dx.doi.org/10.35663/amp.2020.371.898>
 40. **İnat G, Sırken B, Çiftci A, Erol İ, Başkan C, Yıldırım T. 2023.** Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae species in ground beef and chicken meat. *International journal of food microbiology* 398: 110228. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110228>
 41. **Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. 1988.** Extended broad-spectrum beta- lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 10(4): 867-878.
 42. **Jensen LB, Hasman H, Agerso Y, Emborg HD, Aarestrup FM. 2006.** First description of an oxyimino-cephalosporin-resistant, ESBL-carrying *Escherichia coli* isolated from meat sold in Denmark. *J Antimicrob Chemother* 57(4): 793- 794.
 43. **Jouini A, Vinue L, Slama KB, Saenz Y, Klibi N, Hammami S. 2007.** Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *J Antimicrob Chemother* 60(5): 1137-1141.
 44. **Kanokudom, S, Assawakongkarat T, Akeda Y, Ratthawongjirakul P, Chuanchuen R, Chaichanawongsaraj N. 2021.** Rapid detection of extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* isolated from fresh pork meat and pig cecum samples using multiplex recombinase polymerase amplification and lateral flow strip analysis. *PloS one* 16(3): e0248536. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248536>
 45. **Kempf I, Jouy E, Chauvin C. 2016.** Colistin use and colistin resistance in bacteria

- from animals. *International journal of antimicrobial agents* 48(6): 598–606. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.016>
46. **Lazarus B, Paterson DL, Mollinger JL, Rogers BA. 2015.** Do human extraintestinal *Escherichia coli* infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins originate from food-producing animals? A systematic review. *Clin Infect Dis* 60(3): 439-52.
 47. **Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, Dem P, Schwab. 2013.** Risk Factors Associated with the Community-Acquired Colonization of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Positive *Escherichia Coli*. An Exploratory Case-Control Study. *PLoS One* 8(9). Doi: 10.1371/journal.pone.0074323
 48. **Lezameta L, Gonzáles-Escalante E, Tamariz JH. 2010.** Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública* 27(3): 345–351. Doi: <https://doi.org/10.1590/s1726-46342010000300006>
 49. **Li L, Ye L, Yu L, Zhou C, Meng H. 2016.** Characterization of Extended Spectrum B-Lactamase Producing Enterobacteria and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Pork and Cooked Pork Products in South China. *J Food Sci* 81(7): M1773-7.
 50. **Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. 2014.** Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol* 9(9): 1071–108. Doi: 10.2217/fmb.14.48
 51. **Liu LH, Wang NY, Wu AY, Lin CC, Lee CM, Liu CP. 2018.** *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of microbiology, immunology, and infection* 51(4): 565–572. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.08.016>
 52. **Marrero-Moreno CM, Mora-Llanes M, Hernández-Fillor RE, Báez-Arias M, García-Morey T, Espinosa-Castaño I. 2017.** Identificación de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) en instalaciones porcinas de la provincia Matanzas. *Revista de Salud Animal* 39(3): 00.
 53. **Marshall BM, Levy SB. 2011.** Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev* 24: 718-733. Doi: 10.1128/CMR.00002-11.
 54. **Martínez-Laorden A, Arraiz-Fernández C, González-Fandos E. 2023.** Microbiological Quality and Safety of Fresh Turkey Meat at Retail Level, Including

- the Presence of ESBL-Producing *Enterobacteriaceae* and Methicillin-Resistant *S. aureus*. *Foods* 12(6): 1274.
55. **Massova I, Mobashery S. 1998.** Kinship and diversification of bacterial penicillinbinding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 42(1): 1-17.
 56. **Menezes EA, Cezafar FC, Andrade MdoS, Rocha MV, Cunha, FA. 2004.** Freqüência de *Serratia* sp. em Infecções Urinárias de pacientes internados na Santa Casa de Misericórdia em Fortaleza. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37(1): 70–71. Doi: <https://doi.org/10.1590/s0037-86822004000100020>
 57. **[MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2017.** Panorama y Perspectivas de la producción de carne de cerdo en el Perú. Lima: MINAGRI. 21 p.
 58. **[MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2020.** Panoramas y perspectivas de la producción de carne de cerdo en el Perú. Disponible en: <http://repositorio.midagri.gob.pe:80/jspui/handle/20.500.13036/721>
 59. **Monterroso M, Salvatierra G, Sedano A, Calle S. 2019.** Detección fenotípica de mecanismos de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aisladas de infecciones entéricas de porcinos provenientes de granjas de producción tecnificada. *Rev Inv Vet Perú* 30(1): 455-464. Doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15670>
 60. **Montiel F, Kaltwasser G, Valdivieso C, Lam M. 1988.** In vitro susceptibility to 10 antibiotics of methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* in Chile. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 10(3): 145–148. Doi: [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(88\)90033-8](https://doi.org/10.1016/0732-8893(88)90033-8)
 61. **Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. 2011.** Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 29(7): 524–534. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.011>
 62. **Ojer-Usoz E. 2015.** Caracterización de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas en muestras alimentarias ambientales y clínicas. Tesis de Doctorado. Pamplona, España: Universidad de Navarra. 255 p.

63. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2021.** Lista de agentes antimicrobianos importantes para la Medicina Veterinaria. Francia: OIE. Serie de informes técnicos. 9 p. Disponible en: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/06/e-oie-lista-antimicrobianos-junio2021.pdf>
64. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2001.** Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. OMS 2: 104. Doi: <http://doi.org/10.1590/S1020-49892001001000014>
65. **[OPS] Organización Panamericana de la Salud. 2021.** CD59/9 - Una Salud: un enfoque integral para abordar las amenazas para la salud en la interfaz entre los seres humanos, los animales y el medioambiente. Instructor. Washington. [Internet] [13 febrero 2020]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/cd599-salud-enfoque-integral-para-abordar-amenazas-para-salud-interfaz-entre-seres>
66. **Perozo Mena A, Milagros M, Castellano M, Ling Toledo E, Núñez D, Ginestre M, Villasmil J, Bermúdez-González J, Villalobos R, Gómez-Gamboa L. 2017.** Detección de Betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacteriaceae* en un Centro de Salud de Maracaibo, Venezuela. *Kasmera* 45(2): 88-99. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/23059>
67. **Pollock J, Muwonge A, Hutchings MR, Mainda G, Bronsvort BM, Gally DL, Corbishley A. 2020.** Resistance to change: AMR gene dynamics on a commercial pig farm with high antimicrobial usage. *Scientific reports* 10(1): 1708. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58659-3>
68. **Puerta A, Mateos F. 2010.** Enterobacterias. *Medicine Prog Form Méd Cont Acred* 10(51): 3426-31. Doi: 10.1016/S0304-5412(10)70056-1
69. **Quino W, Hurtado CV, Escalante-Maldonado O, Flores-León D, Mestanza O, Vences-Rosales F, et al. 2019.** Multidrogorresistencia de *Salmonella infantis* en Perú: un estudio mediante secuenciamiento de nueva generación. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 36(1): 37-45. Doi: 10.17843/rpmesp.2019.361.3934
70. **Quizhpe-Peralta A, Encalada-Torres L, Sacoto-Molina A. 2014.** Uso Apropiado de Antibióticos y Resistencia Bacteriana. *Afeme*, 168. Disponible en: <http://www.reactgroup.org/uploads/react/resources/854/Uso-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf>

71. **Riedel S, Hobden JA, Miller S, Morse SA, Mietzner TA, Detrick B, Mitchell TG, Sakanari JA, Hotez P, Mejia R. 2019.** Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, Enteric gram-negative rods (*Enterobacteriaceae*). 28e. McGraw-Hill. Disponible en: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2629§ionid=217770983>
72. **Ríos CA, Morales-Cauti S, Vilca LM, Carhuallanqui PA, Ramos DD. 2019.** Determinación del perfil de resistencia antibiótica de *Salmonella enterica* aislada de cerdos faenados en un matadero de Lima, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 30: 438–445.
73. **Russo T. 2019.** *Enterobacteriaceae*. Abdominal infections. Disponible en: <https://www.infectiousdiseaseadvisor.com/home/decision-support-in-medicine/infectious-diseases/enterobacteriaceae/>
74. **Ruiz-Roldán L, Martínez-Puchol S, Gomes C, Palma N, Riveros M, Ocampo K, Pons M. 2018.** Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 35(3): 425. Doi: 10.17843/rpmpesp.2018.353.3737
75. **Ryan C, Kenneth J, Ray G. 2017.** Sherris Microbiología Médica. Ed McGraw-Hill Interamericana. 6ta Ed. México. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169§ionid=162984036>
76. **Salfinger Y, Lou M. 2015.** American Public Health Association: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5 ed. Washington APHA. 995p
77. **Schill F, Abdulmawjood A, Klein G, Reich F. 2017.** Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and AmpC β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* in fresh pork meat at processing level in Germany. International Journal of Food Microbiology 257: 58–66. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.010
78. **Schwaiger K, Huther S, Hölzel C, Kämpf P, Bauer J. 2012.** Prevalence of antibiotic resistant *Enterobacteriaceae* isolated from chicken and pork meat purchased at the

- slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. *Int J Food Microbiol* 154(3): 206-11. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.014>
79. [SENASA] *Servicio Nacional de Sanidad Agraria*. 2013. Resolución Directoral N.º 072-2013-MINAGRI-SENASA-DIAIA. [Internet]. Disponible en: <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per129964.pdf>
80. [SENASA] *Servicio Nacional de Sanidad Agraria*. 2019. Resolución Directoral N.º 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA. [Internet]. Disponible en: <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per197610.pdf>
81. *Shrestha A, Bajaracharya AM, Subedi H, Turha RS, Kafle S, Sharma S, Neupane S, Chaudhary DK*. 2017. Multi-drug resistance and extended spectrum β -lactamase producing Gram negative bacteria from chicken meat in Bharatpur Metropolitan, Nepal. *BMC Res Notes* 10: 574. Doi: 10.1186/s13104-017-2917-x.
82. *Srichumporn, W, Chaisowwong W, Intanon M, Na-Lampang K*. 2022. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from pork in Muang district, Chiang Mai Province, Thailand. *Veterinary world* 15(12): 2903–2909. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2903-2909>
83. *Stock I, Wiedemann B*. 2002. Natural antibiotic susceptibility of *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter gergoviae* and *Enterobacter sakazakii* strains. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 8(9): 564–578. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00413.x>
84. *Taylor J, Hafner M, Yerushalmi E, Smith R, Bellasio J, Vardavas R*. 2014. Estimating the economic costs of antimicrobial resistance: Model and results. California: RAND Corporation; 113 p. [Internet] [19 de marzo de 2020]. Disponible en: https://www.rand.org/pubs/research_reports/RR911.html
85. *Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kemeroglou A, Tsakris A*. 2000. Detection of extended spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol* 38(2): 542-546.
86. *Ullauri-González C, Freire-Cuesta S*. 2019. Multiresistant *Citrobacter freundii* as an etiological agent of urinary tract infection. Universidad Nacional de

Loja, Ecuador. *Kasmera* 47(1) 09-13. Universidad del Zulia. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3730/373061540003/html/>

87. **Uwizeyimana JD, Kim D, Lee H, Byun JH, Yong D. 2020.** Determination of Colistin Resistance by Simple Disk Diffusion Test Using Modified Mueller-Hinton Agar. *Annals of laboratory medicine* 40(4): 306-311. Doi: 10.3343/alm.2020.40.4.306
88. **Vicente D, Pérez-Trallero E. 2010.** Tetracyclines, sulfonamides, and metronidazole. *Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica* 28(2): 122–130. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.10.002>
89. **Vignoli R, Seija V. 2006.** Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Universidad de la República, Facultad de Medicina, Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene. *Temas de bacteriología y virología médica*. 2ª ed. Montevideo. pp 649-662.
90. **Wang HH, Manuzon M, Lehman M, Wan K., Luo H, Wittum TE, Yousef A, Bakaletz LO. 2006.** Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 254(2): 226-231
91. **Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. 2020.** The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International journal of environmental research and public health* 17(17): 6278. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
92. **Wu Y, Yang D, Wang K, Liu C. 2020.** Multi-Organ Abscesses and 5th Cervical Vertebra Bone Destruction Related with *Klebsiella ozaenae* Infection: A Case Report. *Infection and drug resistance* 13: 4321–4325. Doi: <https://doi.org/10.2147/IDR.S274742>
93. **Zambrano H, Lucas J, Vilca M, Ramos D. 2013.** Determinación de *Salmonella* spp. en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 24(3): 337-345.

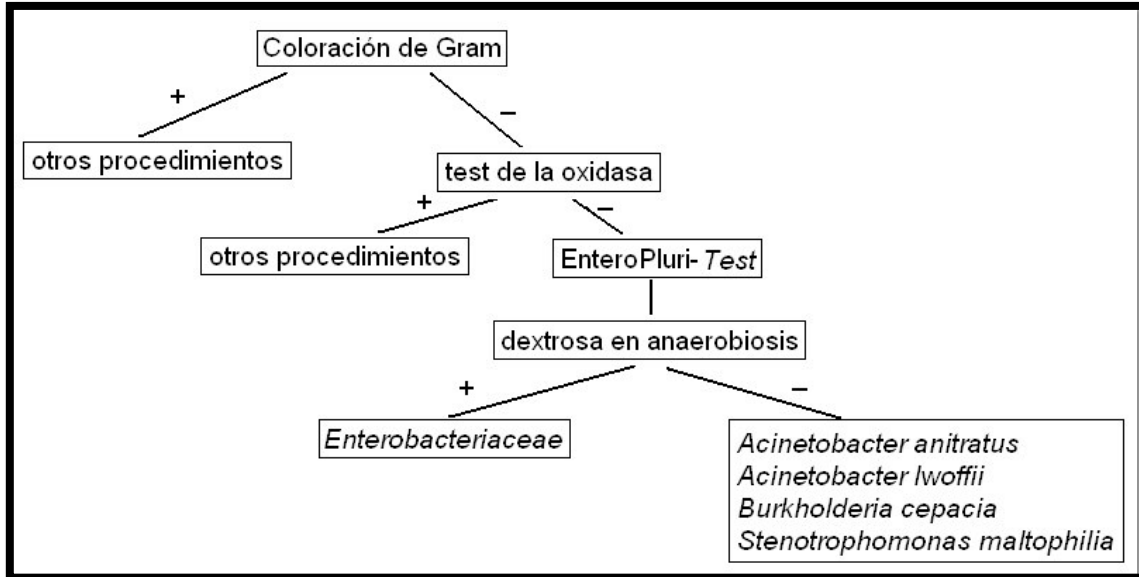
ANEXO 1

MANUAL DEL KIT ENTEROPLURI-TEST

El EnteroPluri-Test permite realizar la identificación de las *Enterobacteriaceae* y de otras bacterias gramnegativas, oxidasas negativas aisladas de muestras clínicas y del medio ambiente. La identificación se basa en pruebas bioquímicas realizadas en terrenos de cultivo agarizados selectivos para el aislamiento de las *Enterobacteriaceae* como: agar Mac Conkey (MC), agar Eosin Methylene Blue (EMB), agar Salmonella e Shigella (SS), agar Hektoen Enteric (HE) o en terrenos no selectivos. La combinación de las reacciones positivas y negativas permite la formación de un código numérico que, a su vez, permite identificar, con la ayuda del Manual de los códigos, las bacterias en examen.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

El microorganismo que hay que identificar ha de ser de aislamiento reciente (18-24 horas); bacterias provenientes de cultivos con más de 48 horas pueden dar lugar a resultados no atendibles. Antes de proceder a sembrar el microorganismo en examen, es necesario realizar la coloración de Gram y el test de la oxidasa en el mismo. Sólo las bacterias gramnegativas, oxidasas negativas puede sembrarse en **EnteroPluri-Test**. Para ejecutar correctamente ambos test se remite a los manuales de bacteriología idóneos, según se muestra en la siguiente imagen.



Tome un sistema **EnteroPluri-Test** del estuche y anote en él: nombre de identificación de la muestra bacteriana que hay que someter a una identificación, fecha de ejecución y otras informaciones idóneas.

- Desenrosque ambos capuchones del sistema. Utilizando la punta del hilo de inoculación, colocada sobre el capuchón blanco y sin flamear, tome una colonia bien

aislada de un terreno agarizado selectivo y no selectivo, prestando atención a no penetrar en el agar.

- Inocule **EnteroPluri-Test** girando el hilo y extrayéndolo a través de todos los sectores del sistema.
- Reintroduzca el hilo con un movimiento giratorio hasta la muesca de rotura; rompa el hilo de inoculación plegándolo en correspondencia con la muesca. La parte del hilo que queda dentro del sistema mantiene el ambiente anaerobio necesario para las reacciones de los compartimientos **Glucosa/Gas**, **Lisina** y **Ornithina**.
- Utilice la parte del hilo que ha quedado rota en mano del operador, para agujerear la película de plástico en correspondencia con los orificios de los sectores **Adonitol**, **Lactosa**, **Arabinosa**, **Sorbitol**, **VP**, **Dulcitol/PA**, **Urea**, **Citrato** para mantener un ambiente aerobio.
- Vuelva a enroscar los dos capuchones e incube **EnteroPluri-Test** a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas colocando en su superficie plana o verticalmente en una porta-probetas con el sector dirigido hacia arriba.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Al final de la incubación:

- Observe el viraje de color de los terrenos de los distintos sectores e interprete los resultados con la ayuda de la tabla n°. 2 y eventualmente de un **EnteroPluri-Test** no sembrado y llevado a temperatura ambiente.

NOTA: En el caso de que el sector **Glucosa/Gas** no evidencie ningún cambio de color mientras que en otros sectores se evidencie una variación cromática, el microorganismo que se está examinando no pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*. El Manual de los códigos también comprende muchos códigos de microorganismos que no fermentan la glucosa en anaerobiosis, sin embargo, en algunos casos pueden ser necesarias algunas reacciones químicas suplementarias para una identificación correcta de estos no fermentados.

- Transcriba los resultados obtenidos en el módulo de recogida de datos a tal efecto, a excepción del test de indol (sector **H2S/Indol**) y del test de Voges-Proskauer (sector **VP**). Sucesivamente, realice los test de indol y de Voges-Proskauer.

Test de indol

Coloque **EnteroPluri-Test** con la superficie plana dirigida hacia arriba e inyecte con una jeringuilla, pinchando la película de plástico, 3 o 4 gotas de Kovac's Reagent en el sector **H2S/Indol**. La reacción positiva la da la aparición antes de 10-15 segundos de una coloración rosa-rojo del reactivo.

Test de Voges-Proskauer

Esta prueba es necesaria si se elige la base de datos con VP, es posible que se ejecute como una prueba de confirmación, cuando se utiliza la base de datos sin VP. Coloque **EnteroPluri-Test** con la superficie plana dirigida hacia arriba e inyecte con una jeringuilla, pinchando la película de plástico, 3 gotas de solución de alfa-naftol (reactivo 1) y 2 gotas de hidróxido de potasio (Reactivo 2). La reacción positiva la da la aparición antes de 20 segundos de una coloración roja.

Tabla nº.2:

Sectores	REACCIONES BIOQUÍMICAS	Color sector	
		Reacción positiva	Reacción negativa
Glucosas / Gas	Fermentación de la glucosa	amarillo	rojo
	Producción de gases	cera suelta	cera adherida
Lisina	Descarboxilación de la lisina	violeta	amarillo
Ornitina	Descarboxilación de la ornitina	violeta	amarillo
H₂S / Indol	Producción de hidrógeno sulfurado	negro-marrón	beige
	Producción de indol	rosa-rojo	incoloro
Adonitol	Fermentación adonitol	amarillo	rojo
Lactosa	Fermentación lactosa	amarillo	rojo
Arabinosa	Fermentación arabinosa	amarillo	rojo
Sorbitol	Fermentación sorbitol	amarillo	rojo
VP	Producción de acetoína	rojo	incoloro
Dulcitol / PA	Fermentación del dulcitol	amarillo	verde
	Deaminación de la fenilalanina	marrón oscuro	verde
Urea	Hidrólisis de la urea	púrpura	beige
Citrato	Utilización del citrato	azul	verde

- Componga el código numérico de 5 cifras siguiendo las instrucciones recogidas en el apartado **FORMACIÓN DEL CÓDIGO NUMÉRICO**.
- A continuación, remóntense a la identificación bacteriana utilizando el **Manual de los códigos**.

NÚMERO DE CÓDIGO DE FORMACIÓN: BASE DE DATOS CON VP

Los 15 test bioquímicos se dividen en 5 grupos que contienen 3 test y cada test se indica con un valor de positividad de 4,2,1.

- Valor 4: primer test positivo de cada grupo (**Glucosa, Ornitina, Adonitol, Sorbitol, PA**).
- Valor 2: segundo test positivo de cada grupo (**Gas, H₂S, Lactosa, VP, Urea**).
- Valor 1: tercer test positivo de cada grupo (**Lisina, Indol, Arabinosa, Dulcitol, Citrato**).
- Valor 0: cada test negativo.

Sumando en cada grupo los números de las reacciones positivas, se obtiene un código de 5 cifras que, utilizando el **Manual de los códigos**, permite identificar el microorganismo en examen como aparece en el ejemplo.

ANEXO 2

INTERPRETACION DEL CODEBOOK

A. Se observa el cambio de las reacciones de cada prueba bioquímica ubicada en una celda y se compara con la *Tabla de Reacciones* del Kit EnteroPluri-test con VP.

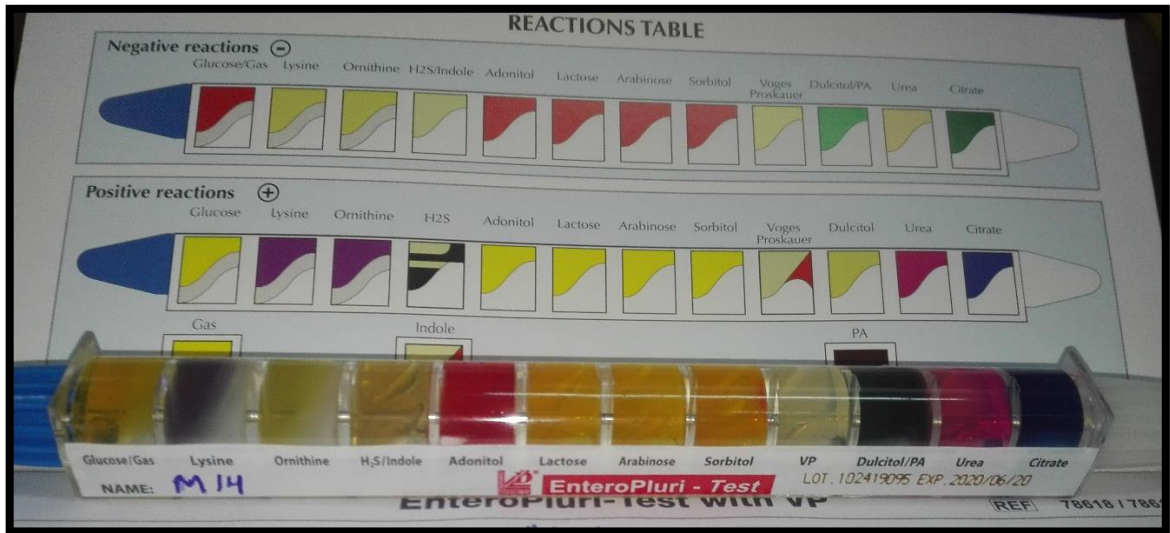


Figura 1. Lectura de la muestra M14.

B. Se asigna un valor numérico a cada celda según su resultado (positivo o negativo) según lo indicado en el Kit EnteroPluri-test con VP. Posteriormente, se suma cada grupo para obtener un código. En la Figura 2 se observa el código de la muestra M14 que es 50343.

Test	Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4			Grupo 5		
	Glucosa	Gas	Lisina	Ornitina	H ₂ S	Indoles	Adonitol	Lactosa	Arabinosa	Sorbitol	VP	Dulcitol	PA	Urea	Citrato
Positivity code	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Results	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
Code sum	4+0+1= 5			0+0+0= 0			0+2+1= 3			4+0+0= 4			0+2+1= 3		
NUMERICAL CODE: 50343															
MICROORGANISM:															

Figura 2. Tabla de identificación del código de la muestra M14.

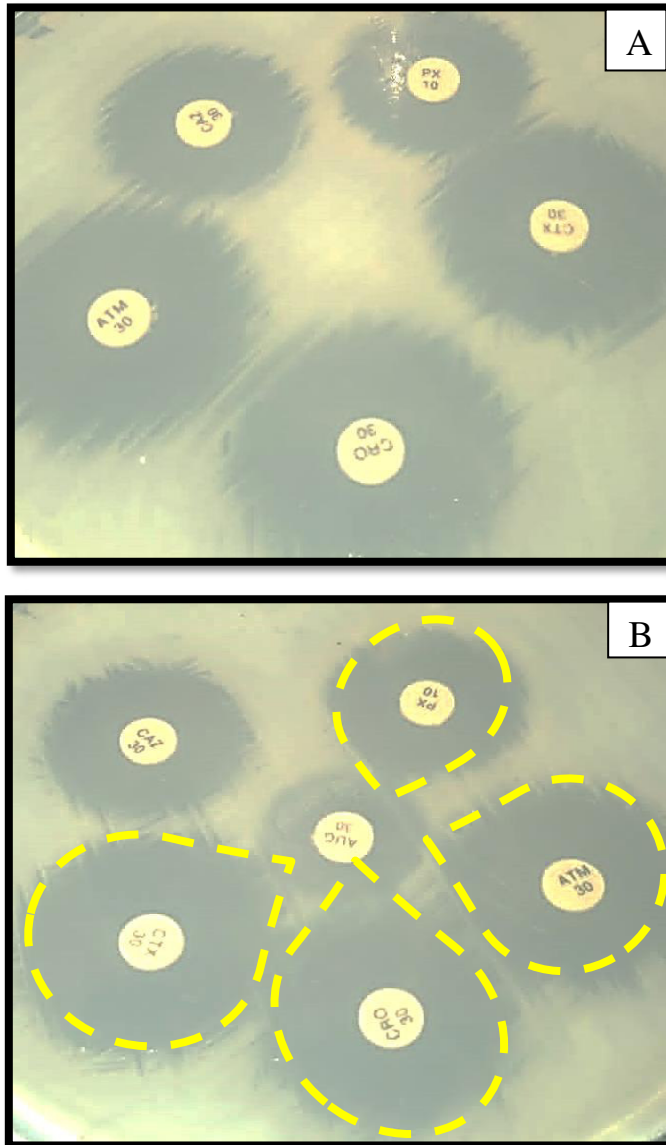
C. El código obtenido 50343 de la muestra M14, se busca en el Manual de Códigos “CODEBOOK” para determinar el género y especie de la enterobacteria. En la Figura 3 se observa que el código le pertenece a *Klebsiella pneumoniae*.

ENTEROBACTERIACEAE		
ENTEROBACTERIACEAE		
Codice numerico Code number	Microorganismo Microorganism	Test atipici Atypical tests
50323	<i>Serratia rubidaea</i>	ADO, URE
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ADO, SOR
50333	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ADO, SOR
50340	<i>Escherichia coli</i>	IND
	<i>Klebsiella ozaenae</i>	ADO
50341	<i>Klebsiella ozaenae</i>	ADO
50342	<i>Klebsiella ozaenae</i>	ADO, URE
50343	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ADO, VP
50344	<i>Escherichia coli</i>	IND, PA
50350	<i>Escherichia coli</i>	IND

Figura 3. Lectura del código numérico en el CODEBOOK del Kit EnteroPluri-test.

ANEXO 3

METODO DE DOBLE DISCO



Prueba fenotípica de la presencia de BLEE en una cepa de *Klebsiella pneumoniae*. **A.** Análisis de susceptibilidad mediante el método Kirby–Bauer, para detección de cepas sospechosas de producción de BLEE. **B.** Análisis de susceptibilidad mediante el método de Doble disco con inhibidor betalactámico, para la detección de cepas confirmadas de producción de BLEE. Se observa que la cepa es productora de BLEE con fenotipo de sinergia para cuatro antibióticos: aztreonam (ATM), cefotaxima (CTX), cefpodoxima (PX) y ceftriaxona (CRO).