

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS  
ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE ( Escherichia coli ) AISLADAS  
DE CARNE MOLIDA DE RES, PROCEDENTES DE MERCADOS  
MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA,  
MEDIANTE LA PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO”**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**CARMEN AIDEÉ SANDOVAL ESCRIBÁ**

**AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MEDICO VETERINARIO**

**GUATEMALA, SEPTIEMBRE 2005**

**JUNTA DIRECTIVA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**DECANO**            **Lic. Zoot. MARCO VINICIO DE LA ROSA MONTEPEQUE**

**SECRETARIO**   **Lic. Zoot. GABRIEL G. MENDIZÁBAL FORTÚN**

**VOCAL I**            **Dr. M. V. YERI EDGARDO VÉLIZ PORRAS**

**VOCAL II**          **Dr. M. V. MSc. FREDY R. GONZÁLEZ GUERRERO**

**VOCAL III**        **Dr. M. V. EDGAR BAILEY**

**VOCAL IV**        **Br. YADYRA ROCIO PÉREZ FLORES**

**VOCAL V**         **Br. JOSÉ ABRAHAM RAMÍREZ CHANG**

**ASESORES**

**Dra. M.V. Virginia Bolaños de Corzo**

**Dr. M.V. Jaime Méndez**

**Dr. M.V. Wilson Valdez**

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS  
ESTATUTOS DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA, PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL  
TRABAJO DE TESIS TITULADO:**

**“DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS  
ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE ( Escherichia coli ) AISLADAS  
DE CARNE MOLIDA DE RES, PROCEDENTES DE MERCADOS  
MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA,  
MEDIANTE LA PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO”**

**Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia como requisito previo a optar el título  
profesional de**

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO QUE DEDICO**

**A DIOS**

**Que me ha dado la vida, la familia que tengo y la sabiduría para poder estar donde estoy.**

**A MIS PADRES**

**ABEL SANDOVAL MARTINEZ, CARMELINA ESCRIBÁ ESCOBAR DE SANDOVAL. Por su ejemplo, paciencia y el apoyo que siempre me han brindado. Gracias por siempre.**

**A MI ESPOSO**

**Ing. Agr. MARCIAL CORADO RECINOS. Quien ha sido esa luz de apoyo que Diosito me ha puesto en mi camino, para que mis sueños se hagan realidad**

**A MIS HIJOS**

**KATHERINE MELISSA Y MANUEL ANTONIO CORADO SANDOVAL. Mis angelitos lindos, por quienes he alcanzado este logro tan esperado y son una bendición en mi vida.**

**A MIS ABUELOS**

**ALFONSO SANDOVAL RECINOS, ANDRES ESCRIBÁ PAREDES. Quienes desde el cielo me ven, para celebrar este triunfo.**

**A MIS ABUELITAS**

**ADELA MARTINEZ DONADO, EDUARDA ESCOBAR Y ESCOBAR. Por sus sabios consejos y su ejemplo.**

**A MIS HERMANOS**

**DELMY DINORA, HEYDI ADILIS, BELMAR ABEL, LUDWIN ADALBERTO, JONATHAN RULAMAN. Que este triunfo sea de motivación para que ellos culminen sus metas.**

**A MIS SOBRINOS**

**LUIS ANGEL, VICTOR ABEL RUANO SANDOVAL, BELMAR ALFONSO SANDOVAL HERNÁNDEZ, con especial cariño.**

**A MIS TIOS**

**Con cariño sincero, y especialmente a mi tía; ELSA SANDOVAL quien ha estado a mi lado en las buenas y en las malas con su apoyo incondicional para mi familia.**

**A MIS AMIGOS**

**Omar, Ismael, Ilenea, Beatriz, Aly, Ligia, Claudia, Fernando, Herman, Juan Miguel. Por su amistad.**

**TESIS QUE DEDICO**

**A DIOS**

**A MI PATRIA GUATEMALA**

**A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**AL PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

## **AGRADECIMIENTO**

Principalmente a Dios Padre, por darme el privilegio de poder culminar mis metas. También al equipo de trabajo del Programa Nacional de Sanidad Avícola (PROSA), donde realice mi E.P.S. por permitirme iniciar mi práctica como Médica Veterinaria, especialmente al Dr. M. V. Mario Erales Almengor, que ha sido mi maestro con sus consejos de experiencia de la vida de 42 años de medico veterinario. Al Departamento de Microbiología, a los técnicos y al personal docente que aquí labora, por su apoyo en el desarrollo práctico de esta tesis.

## INDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>3</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
	3.1 General	4
	3.2 Específicos	4
<b>IV.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
	4.1 <u>Escherichia coli</u>	5
	4.1.1 Morfología y caracteres culturales de <i>Escherichia coli</i>	5
	4.1.2 Caracteres diferenciales	6
	4.1.3 Factores de virulencia	7
	4.1.4 Epidemiología y Patogenia	10
	4.2 Resistencia a los antibióticos	11
	4.2.1 Mecanismos de resistencia	11
	4.2.2 Mecanismo de resistencia mediados por plásmidos R	11
	4.2.3 Origen de los plásmidos de resistencia	11
	4.2.4 Diseminación de la resistencia a los antibióticos	12
	4.2.5 Cómo vencer la resistencia a los antibióticos	14
	4.3 El problema de la resistencia antimicrobiana	15
	4.4 Susceptibilidad antimicrobiana y transferencia de la resistencia	16
	4.5 Actividades hasta la fecha	18
	4.6 Fundamentos para la interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión	27
	4.6.1 Identificación bacteriana	29
	4.6.2 Frecuencia de las pruebas	29
	4.7 Factores que afectan la actividad antimicrobiana	30
	4.7.1 pH del medio	30
	4.7.2 Componentes del medio	30
	4.7.3 Estabilidad de los medicamentos	31
	4.7.4 Tamaño del inóculo	31
	4.7.5 Duración de la incubación	31
	4.7.6 Actividad metabólica de los microorganismos	31



**11.1** UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.  
 DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE Escherichia coli AISLADAS DE CARNE MOLIDA DE RES PROCEDENTES DE MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA, MEDIANTE EL METODO DE DIFUSIÓN EN DISCO 53

**11.2** UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
 DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE Escherichia coli AISLADAS DE CARNE MOLIDA DE RES PROCEDENTES DE MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA, MEDIANTE LA PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO. 54

**11.3** COMPORTAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE Escherichia coli 55

**FOTOGRAFIAS:**

Fotografía 1 y 2: Ajuste de la turbidez del inóculo a 0.5 de la escala de Mc Farland	56
Fotografía 3: Obtención del inóculo ( <u>E. coli</u> ) en la superficie del Agar Mueller Hinton	57
Fotografía 4: Inoculación del inóculo ( <u>E. coli</u> ) en la superficie del agar Mueller Hinton	57
Fotografía 5: Extracción del disco de antibióticos del dispensador	58
Fotografía 6: Disco del antibiótico sobre la superficie del Agar Mueller Hinton inoculado.	58
Fotografía 7: Colocando disco de antibiótico sobre la superficie del agar Mueller Hinton con pinza estéril	59
Fotografía 8: Muestra la distribución de los diferentes antibióticos utilizados en placas de 150 mm. para dicho estudio	59
Fotografía 9: Parte del equipo de laboratorio utilizado en dicho trabajo de tesis	60
Fotografía 10: Vista de los diferentes halos de inhibición en la placa de Mueller Hinton	60
Fotografía 11: Medidas de los diámetros de las zonas de inhibición para obtener resultados de las muestras procesadas	61
Fotografía 12: Medidas de los diámetros de las zonas de inhibición para obtener los resultados de la cepa control	61

## I. INTRODUCCIÓN

El conocimiento cada vez más amplio de la transmisión de enfermedades a través de los alimentos en este caso la carne molida de res contaminada con *Escherichia coli*, ha determinado que en un número de países cada vez mayor, incluso el nuestro, se considere la necesidad de someter estos productos y los distintos ambientes con los que entran en contacto a ciertas pruebas o estudios encaminados a evaluar su inocuidad. Es por ello, que el presente estudio abarca la determinación de la resistencia a los antibióticos de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de carne molida de res procedentes de mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala, mediante la prueba de difusión en disco.

Los agentes antimicrobianos se emplean extensamente en la medicina humana y veterinaria para el tratamiento de enfermedades contagiosas y también para promover el crecimiento en los animales. Sin estos medicamentos muchas enfermedades infecciosas no se podrían tratar. En los últimos años la eficacia de la terapia antimicrobiana humana ha sido retada por la aparición de diferentes patógenos bacterianos resistentes, como *Enterococos* resistente a la vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticiclina y *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes. El impacto primario de la resistencia a los antimicrobianos es el fallo de la terapia empírica de infecciones bacterianas. Esto puede llevar a un aumento en la morbilidad y la mortalidad, y por lo tanto al sufrimiento prolongado de los pacientes infectados y al aumento subsiguiente en costos por el sector de la salud pública. La resistencia antimicrobiana en bacterias comensales y otras no patogénicas pueden afectar también la salud humana.

Las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos evalúan la capacidad de un fármaco antibacteriano para inhibir in vitro el desarrollo bacteriano. Esta capacidad puede determinarse por el método de dilución o por el método de difusión. La técnica actualmente utilizada para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos es el producto de importantes esfuerzos internacionales desde hace más de dos décadas enfocados a normalizar el método.

Aunque el uso continuo de antibióticos, útiles en clínica, para alimentación animal incrementará la diseminación de genes de resistencia, no está claro que baste sólo con prohibir esta aplicación para resolver el problema de la resistencia, el uso continuo de antibióticos en veterinaria puede, por sí mismo, mantener la microbiota animal resistente.

## **II. HIPÓTESIS**

Las cepas de Escherichia coli aisladas de carne de res molida procedentes de mercados municipales de la ciudad de Guatemala, presentan resistencia a los antibióticos.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL

- Contribuir al conocimiento de la resistencia a los antibióticos de las cepas de Escherichia coli en carne fresca de bovino.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir los patrones de resistencia antibiótica de Escherichia coli
- Establecer los antibióticos a los cuales las cepas de Escherichia coli aisladas, presentan resistencia y/o susceptibilidad.

## REVISIÓN DE LITERATURA

Las bacterias presentan dos tipos de estructuras genéticas que pueden conferir resistencia: los cromosomas y los plásmidos. Ambos consisten en ADN de doble filamento y ambos están asociados en algún momento con la membrana celular interior de la bacteria. Los plásmidos no son esenciales para la supervivencia pero son portadores de determinantes genéticos que confieren resistencia contra antibióticos, así como virulencia, a las bacterias. Siempre hay solamente un plásmido de su tipo en una célula (esto se denomina “incompetencia”). (1,14).

### 4.1. *Escherichia coli*

#### 4.1.1. MORFOLOGÍA Y CARACTERES CULTURALES DE *Escherichia coli*

*E. coli* es un bacilo grueso (1,5 x 4 micras) gramnegativo. La mayoría de las cepas son móviles por poseer los flagelos peritricos típicos de las enterobacteriáceas. Algunas forman una cápsula de polisacáridos. La estructura celular de muchas se caracteriza por la posesión de fimbrias y de pelos sexuales, así como de plasmidos en el citoplasma, los cuales son responsables de muchas actividades biológicas (adhesión, fermentación de azúcares, producción de colicina, hemolisina y enterotoxina y resistencia a los antibióticos, metales pesados y luz ultravioleta). El cultivo se realiza en los medios bacteriológicos usuales. Los diferenciales empleados para el aislamiento permiten una rápida

identificación de las cepas lactosa-positivas, por lo cual puede considerarse rutinario, la mayoría de las veces, el reconocimiento de *E. coli* en los casos de duda o de situaciones patológicas especiales, sobre todo con implicaciones terapéuticas o epidemiológicas (por ejemplo, infecciones nosocomiales), es necesario además la diferenciación bioquímica. Para aislar la *E. coli*, son adecuados básicamente los medios débilmente selectivos (por ejemplo, inhibición de bacterias grampositivas), como el agar-lactosa azul de bromotimol y el agar Endo o MacConkey. (8)

La formulación del agar MacConkey corresponde considerablemente con las recomendadas por la United States Pharmacopoeia XXI (1985), European Pharmacopoeia II y Deutsches Arzneibuch. Corresponde además con las normas de ensayo, apartado 35 de la LMBG para el análisis de alimentos.

La forma de actuación del agar MacConkey es que las sales biliares y el cristal violeta inhiben considerablemente la flora grampositiva. La lactosa, junto con el indicador de pH rojo neutro, sirven para la comprobación de la degradación de dicho azúcar. (13)

#### **4.1.2. CARACTERES DIFERENCIALES**

Es posible la identificación rutinaria rápida comprobando la fermentación de la lactosa y la producción de indol con ausencia de actividad frente al citrato y la urea.

La tipificación serológica se basa en el reconocimiento de los antígenos:

- a) Antígeno O somáticos o de la pared celular (polisacáridos, termoestables).
- b) Antígenos K de la cápsula (polisacáridos ácidos).
- c) Antígenos H de los flagelos (proteína, termolábil).
- d) Antígenos de las fimbrias (proteína, termolábil, no se forma a 22°C). Antes se creía que eran parte del complejo antigénico K; de ahí la denominación actual de K 88 y K99. (8)

#### **4.1.3 FACTORES DE VIRULENCIA**

La patogenicidad de E. coli se manifiesta mediante diversos Factores de virulencia dependientes del estado patológico. Hay que diferenciar básicamente las cepas septicémicas y las enteropatógenas.

##### **Septicemia:**

Los principales factores de virulencia son, por un lado, la presencia de la cápsula (resistencia a la fagocitosis), que hace posible la invasión, y, por otro, la acción de la endotoxina por medio del lipide A del complejo lipopolisacárido. Estas cepas se presentan principalmente en terneros y corderos y a veces también en lechones. (1, 8)

E. coli enterotóxica (ETEC) reciben este nombre las cepas de E. coli que tienen la propiedad de colonizar en el intestino (factores de adhesión) y de producir toxinas (enterotoxinas). Los plásmidos

determinan ambos caracteres y entre ellos existe una correlación patológica. La coincidencia de ambos es necesaria para una acción patológica óptima. (1, 8)

**a) Factores de adhesión (adhesinas):**

Trátase de estructuras proteicas (fimbrias) filamentosas muy finas de la superficie de la célula bacteriana, que pueden unirse en gran parte específicamente a los receptores celulares del intestino. De esta forma hacen posible la colonización en el intestino delgado. Se diferencian de las estructuras de fijación comunes (tipo 1 de fimbrias) que poseen muy a menudo también las cepas comensales de *E. coli*. (1,8)

**b) Enterotoxinas:**

Las enterotoxinas ejercen su acción directamente sobre el epitelio intestinal merced a su influencia sobre la adenilciclase. Ocasionan graves trastornos en el transporte de electrolitos y agua, lo que conduce a una hipersecreción con grandes pérdidas acuosas. (1,8)

#### **4.1.4 EPIDEMIOLOGÍA Y PATOGENIA**

*Escherichia coli* es un habitante natural del segmento posterior del tracto intestinal (extremo del íleon, colon) del hombre y los animales y representa aproximadamente el 1 % de la flora bacteriana del intestino.

Se elimina con las heces y contamina el medio externo, donde puede conservar su vida por mucho tiempo en condiciones favorables. Por eso este germen es un indicador del grado de contaminación fecal de los alimentos y el agua.

La colonización del intestino tiene lugar poco después del nacimiento. Algunas cepas permanecen allí durante meses (cepas resistentes), otras viven en él solo unos días o pocas semanas (cepas transitorias). La regulación de la flora de E. coli obedece a interacciones competitivas antagónicas (bacteriocinas, entre otras) y a la inmunidad local. La función principal de E. coli reside en la regulación de los procesos intestinales de descomposición y en producción de importantes vitaminas (tiamina, ácido fólico, vitaminas C y K). (1,8)

## **4.2 RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS**

El concepto de **resistencia a los antibióticos**, es la capacidad adquirida por un organismo para resistir los efectos de un antibiótico ante el cual es normalmente susceptible. En primer lugar debemos indicar que los genes de resistencia se adquieren probablemente de los productores de antibióticos, a través de un proceso de intercambio genético. Con el fin de protegerse a sí mismo de los antibióticos que ellos producen, estos organismos han desarrollado mecanismos para neutralizar o destruir sus propios antibióticos. La existencia de estos genes significa que, bajo las condiciones adecuadas, es posible transferir esta resistencia a otros organismos. Empezaremos por considerar algunos de los mecanismos de resistencia a los antibióticos. Luego veremos las consecuencias de la resistencia en situaciones prácticas.

### **4.2.1 MECANISMOS DE RESISTENCIA**

No todos los antibióticos actúan frente a todos los microorganismos.

Algunos microorganismos son naturalmente resistentes a algunos antibióticos. La resistencia a un antibiótico puede ser una propiedad inherente a un microorganismo, o puede adquirirla. Existen varias razones por las que los microorganismos pueden tener una resistencia a un antibiótico, inherente. (1) El organismo puede carecer de la estructura diana sobre la que actúa un antibiótico. Por ejemplo, algunas bacterias como los micoplasmas, carecen de una pared celular típica y son resistentes a las penicilinas. (2) El organismo puede ser impermeable al antibiótico. Por ejemplo, las bacterias Gram negativas son impermeables a la penicilina G. (3) El organismo puede ser capaz de alterar el antibiótico pasándolo a una forma inactiva. (4) El organismo puede modificar la diana de un antibiótico. (5) Por intercambio genético, puede tener lugar la alteración de una vía metabólica que bloquea el agente antimicrobiano. (6) El organismo puede ser capaz de bombear hacia fuera el antibiótico que va entrando en la célula (eflujo). (12)

#### **4.2.2. MECANISMO DE RESISTENCIA MEDIADOS POR PLÁSMIDOS R**

En el laboratorio, las células resistentes a los antibióticos se aíslan generalmente de cultivos que eran predominantemente sensibles a los antibióticos. La resistencia de estos aislamientos, generalmente se debe a mutaciones en los genes cromosómicos. Por otro lado, la mayoría de las bacterias resistentes a los fármacos, aisladas de pacientes, contienen

los genes cromosómicos surge a causa de una mutación de la diana de acción del antibiótico (por ejemplo, un ribosoma).

Por el contrario, la resistencia del plásmido R, en la mayoría de los casos se debe a la presencia en los plásmidos R de genes que codifican nuevas enzimas que inactivan el antibiótico o de genes que codifican enzimas que o bien evitan la incorporación del antibiótico o bien lo bombean activamente hacia fuera. Por ejemplo, se conoce un cierto número de antibióticos con estructuras químicas semejantes, que contienen unidades aminoglicosídicas. Entre los antibióticos aminoglicósidos están la estreptomicina, la neomicina, la kanamicina y la espectinomicina. Las cepas que llevan plásmidos R que confieren resistencia, contiene enzimas que modifican químicamente los antibióticos, bien por fosforilización, acetilación o adenilización. El fármaco modificado carece entonces de actividad antibiótica. La presencia de resistencia múltiple a los antibióticos se debe al hecho de que un solo plásmido contiene varios genes que codifican diferentes enzimas que inactivan a diferentes antibióticos. (12)

#### **4.2.3. ORIGEN DE LOS PLÁSMIDOS DE RESISTENCIA**

Aunque no se dispone de una evidencia específica acerca del origen de plásmidos R de resistencia múltiple a los antibióticos, hay una serie de hechos que sugieren que los plásmidos del tipo plásmido R existían antes de la era antibiótica. El creciente uso de los antibióticos proporcionó condiciones selectivas para la dispersión de los plásmidos R con uno o más genes de resistencia a los antibióticos. En efecto una

cepa de *Escherichia coli* que fue congelada en 1946, contenía un plásmido con genes que conferían resistencia a la tetraciclina y a la estreptomicina, a pesar incluso de que ninguno de estos antibióticos empezó a utilizarse en clínica hasta después de varios años más tarde. Además, se demostró que algunas cepas que llevaban en el plásmido R, genes de resistencia a las penicilinas semisintéticas, existían mucho antes de que se sintetizaran estas penicilinas semisintéticas. Lo que tal vez tiene aun más significado ecológico, es que los plásmidos R que confieren resistencia a los antibióticos, han sido detectados en algunas bacterias no patógenas habitantes del suelo. En el suelo esta resistencia puede conferir confianza selectiva porque los principales organismos productores de antibióticos (*Streptomyces* y *Penicillium*) son también organismos habitantes normales del suelo. Por tanto, parece ser que los plásmidos no son un fenómeno reciente sino que existían en la población natural microbiana, antes de la era antibiótica. Más tarde, el uso extendido de los antibióticos proporcionó las condiciones selectivas para una rápida dispersión de estos plásmidos R. Los plásmidos R, son por tanto, un producto predecible de la selección natural e imponen límites significativos a la utilización a largo plazo de cualquier antibiótico como agente terapéutico. (12)

#### **4.2.4. DISEMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS**

El uso extensivo e inadecuado de los antibióticos está conduciendo a un rápido desarrollo de resistencia a los antibióticos en los

microorganismos patógenos. El descubrimiento y el uso clínico de muchos antibióticos conocidos ha ido paralelo a la emergencia de bacterias que resisten su acción.

Las encuestas han demostrado que los antibióticos se utilizan con una frecuencia mucho mayor de la necesaria. Como resultado, casi todos los microorganismos patógenos han desarrollado resistencia a algunos antibióticos desde que en la década de los años 1950 se inició el uso extensivo de los antibióticos. La penicilina y las sulfas, los dos primeros agentes quimioterapéuticos ampliamente utilizados, no tienen actualmente un uso amplio porque muchos patógenos han adquirido algún grado de resistencia frente a ellos. Incluso los organismos que todavía son uniformemente sensibles a la penicilina, tales como *Streptococcus pyogenes* (el microorganismo que causa la escarlatina y la fiebre reumática, ahora necesitan mucha más cantidad de penicilina para un tratamiento efectivo que hace una década.

Existe sin embargo información alentadora relativa a la resistencia a los antibióticos algunos informes sugieren que si se detiene el uso de un determinado antibiótico, la resistencia a este antibiótico irá revirtiendo a lo largo del tiempo. Aunque algunos de estos informes proceden de ambientes limitados como los hospitales, al menos uno de los informes indica que este fenómeno está ocurriendo a escala nacional. Esta información implica que la resistencia es reversible y que la eficacia de algunos antibióticos pueden restablecerse mediante una vigilancia a largo plazo y un uso prudente. (12)

#### **4.2.5. CÓMO VENCER LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS**

Contando con la exposición a una suficiente cantidad de antibiótico y

durante el tiempo preciso, se puede desarrollar resistencia a cualquier compuesto antimicrobiano. El uso racional de los medicamentos existentes es un camino importante para prolongar su período de aplicación en clínica. Sin embargo, la solución a largo plazo para el problema de la resistencia microbiana a los antibióticos está en el desarrollo de nuevos compuestos antimicrobianos. Para encontrar agentes nuevos se utilizan dos estrategias: se pueden crear análogos de los compuestos existentes o bien se pueden desarrollar clases de fármacos completamente nuevos.

La producción de análogos nuevos de los compuestos antimicrobianos existentes es generalmente sencilla y con frecuencia productiva, debido en gran parte a que los compuestos nuevos, que son estructuras miméticas de las anteriores, tienen un sitio de acción predecible (muchos estudios con análogos de medicamentos se inician en un ordenador donde se “crean” rápidamente nuevos compuestos e incluso se ensaya su fijación y su toxicidad, en el ambiente del ordenador). En muchos casos, parámetros como la solubilidad y la afinidad pueden cambiarse al alterar la estructura química, sin alterar el sitio de acción del compuesto. De hecho, el nuevo compuesto puede ser más potente que el compuesto original y, debido a que la resistencia se

basa en el reconocimiento estructural, el nuevo compuesto puede no ser reconocido por los factores de resistencia. (12)

#### **4.3. EL PROBLEMA DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA**

El desarrollo de bacterias resistentes a los agentes antimicrobianos en

un grupo de animales o durante el tratamiento es un asunto de gran preocupación. La resistencia exige que se descarte un enfoque terapéutico con el cual se ha logrado éxito previamente, especialmente si se dispone de otros fármacos antimicrobianos adecuados; además, con frecuencia hay alarma desde un punto de vista epidemiológico y de salud pública. El uso de drogas antimicrobiales en humanos, animales o el ambiente están todos asociados con la selección de bacterias resistentes a las drogas antibióticas. En adición, las drogas antibióticas generalmente pertenecen a clases de drogas que están relacionadas por una estructura similar. Pueden desarrollarse una resistencia que somete la bacteria resistente a una clase entera de drogas antimicrobiales y también puede ocurrir un cruce de resistencia entre clases de drogas. (15)

Es conocimiento común que los organismos comensales resistentes a veces causan infecciones oportunistas, por ejemplo durante cirugías, donde pacientes inmunocomprometidos son tratados con un agente antimicrobiano, el conocimiento con respecto a la transferencia de genes resistentes a los antimicrobianos en ambientes naturales como matrices de alimento y el tracto digestivo es relativamente limitado y es

difícil estimar el significado de este problema para la salud humana. Sin embargo, la transferencia de genes resistentes entre géneros diferentes se ha documentado en el tracto gastrointestinal de animales y humanos.

El uso de antimicrobianos para promover el crecimiento en los animales producidos para el consumo humano representa un problema especial cuando incluye las clases de antimicrobianos que se usan o que probablemente se ampliarán para el tratamiento de humanos o animales, o que se conocen para seleccionar la resistencia cruzada a los antimicrobianos usados en la medicina humana. Ejemplos de la resistencia cruzada entre diferentes clases de antimicrobianos que se emplean tanto para la promoción del crecimiento como para el tratamiento humano incluyen tilosina / eritromicina (macrólidos), virginiamicina / pristinamicina (estreptograminas) y avoparcina / vancomicina ( glucopéptidos) y avilamicina / everninomicina. (2, 11)

### **SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y TRANSFERENCIA DE LA RESISTENCIA.**

La definición clínica de un microorganismo resistente comparada contra la de uno sensible se asocia con la habilidad de un medicamento para ser efectivo en el tratamiento de una infección específica. La susceptibilidad de una bacteria a un antimicrobiano es una característica cuantitativa, generalmente expresada como la concentración mínima inhibitoria (MIC), que denota la concentración más baja del antimicrobiano específico que inhibe el crecimiento de las bacterias

probadas bajo condiciones estandarizadas en el laboratorio. Diferentes grupos de expertos han sugerido puntos límite para clasificar diferentes bacterias patogénicas como resistentes o susceptibles. Estos puntos límite ayudan a los médicos y a los veterinarios a elegir los antimicrobianos. Muchos antimicrobianos se derivan de microorganismos, y por lo tanto, resistencia a estos antimicrobianos es un fenómeno que ocurre naturalmente. Los microorganismos que carecen inicialmente de un sitio de acoplamiento para un medicamento antimicrobiano se describe como naturalmente o intrínsecamente resistente. (2)

Los microorganismos pueden adquirir resistencia antimicrobiana: Cambios en el ADN (mutaciones) o adquisición de ADN ajeno. La naturaleza ha desarrollado sistemas diferentes para la transferencia de genes entre bacterias (conjugación, transformación, transducción y transposición) y estos mecanismos han comprobado ser efectivos en promover genes de resistencia. De este modo, varias bacterias comparten diferentes genes de resistencia. Los elementos genéticos móviles a menudo llevan varios genes de resistencia, y por consiguiente, la toma de un solo elemento genético móvil puede conferir resistencia contra varios antimicrobianos al mismo tiempo. Las bacterias de resistencia múltiple representan un problema especial debido a que el uso de un antimicrobiano puede seleccionar varios genes de resistencia, un fenómeno descrito como co-selección de resistencia. (2)

Las bacterias se proliferan por división y esto significa que pueden heredar la resistencia de sus antepasados. En ambientes con antibióticos, las bacterias resistentes se pueden difundir muy rápidamente a causa de su ventaja selectiva. Se acepta generalmente que todos los antimicrobianos seleccionan bacterias que son resistentes, y además se ha establecido que existe una asociación, aunque compleja, entre el uso de antimicrobianos y la incidencia de bacterias resistentes. Actualmente, el uso prudente de antibióticos parece ser la herramienta principal para preservar la eficacia de los antimicrobianos. (2)

#### **4.4. ACTIVIDADES HASTA LA FECHA**

Poco después de que los productores de ganado comenzaran a usar antimicrobianos en animales producidos para el consumo, los científicos comenzaron a estudiar los posibles efectos del uso de antibióticos a largo plazo. Lo siguiente es un repaso de los estudios e informes clave hasta la fecha. (2)

##### 1960, Comité Netherthrope

Se formó en el Reino Unido para considerar las posibles implicaciones en la salud humana del uso de antibióticos en dosis no terapéuticas en animales destinados al consumo humano, y concluyó que no había pruebas de peligro a la salud humana asociadas con su uso.

(2, 17)

1970, Equipo Operativo de la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (FDA)

El informe del grupo operativo, “El uso de Antibióticos en la Alimentación de Animales”. Concluyó que:

- El uso de cantidades no terapéuticas de antimicrobianos favoreció la selección y el desarrollo de bacterias resistentes
- Animales que reciben tratamiento antimicrobiano pueden servir como depósitos de patógenos resistentes a antibióticos y pueden causar enfermedades humanas.
- La preponderancia de bacterias con resistencia múltiple en animales ha aumentado debido al uso de antimicrobianos.
- Bacterias resistentes se encuentran en la carne y en sus productos derivados.
- Ha habido un aumento en la preponderancia de bacterias resistentes a los antimicrobianos en el hombre. (2,15)

1988, Reseña del Instituto de Medicina de Estados Unidos

En 1988, el Instituto de Medicina (IOM) repasó toda la información disponibles acerca de la resistencia a los antibióticos. Se convocó a un Comité de expertos para determinar los riesgos a la salud humana asociados con la práctica de proporcionar ó administrar penicilina y tetraciclinas, a niveles no terapéuticos, a los animales para promover el crecimiento, la eficiencia de los alimentos y la prevención de enfermedades. En el informe, “Riesgos a la Salud Humana por el Uso

No terapéutico de Penicilina o Tetraciclinas en el Alimento Animal”, el Comité desarrolló un modelo de análisis de riesgos empleando datos sólo en las infecciones de Salmonela que resultaron en muertes humanas. El comité encontró una cantidad considerable de pruebas indirectas implicando el uso no terapéutico y terapéutico de antimicrobianos como un posible peligro a la salud humana, pero no encontró datos que demostraran que el uso no terapéutico de penicilina o tetraciclina causara directamente que un humano muriera de salmonelosis. El Comité recomendó enérgicamente estudios adicionales del asunto. (2, 17)

#### 1995, Informe de la ASM

La Sociedad Americana de Microbiología (ASM), que incluye a miembros que se especializan en microbiología médica y animal, publicó un informe en 1995 que citó graves inquietudes acerca del uso tanto humano como animal de antibióticos y el aumento en la resistencia antimicrobiana. El informe recomendó un aumento significativo en la vigilancia de la resistencia en EE.UU., más educación acerca del uso y riesgos de antimicrobianos, y más investigación básica diseñada para desarrollar antimicrobianos en la medicina humana, pero indicó también el gran uso en la producción de alimentos, que se atribuyó en parte a la consolidación de fincas a centros con números grandes de animales encerrados. El informe dejó claro que el problema de la resistencia a antibióticos es global. (2,17)

#### 1997, Reunión de la OMS

En 1997, la Organización Mundial de la Salud (OMS) celebró una reunión de peritos en Berlín, Alemania, para revisar el asunto de si el uso de antimicrobianos en animales conduce a la resistencia antimicrobiana en humanos o no. Los peritos procuraron definir los problemas médicos potenciales que podrían surgir del uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo humano y hacer recomendaciones para enfrentar el asunto. El grupo de peritos hizo recomendaciones en contra del uso de antimicrobianos para promover el crecimiento si esos antimicrobianos se usan también en la medicina humana o pueden inducir la resistencia cruzada a antimicrobianos usados para la terapia médica humana. El grupo también recomendó que se realicen investigaciones en promotores de crecimiento que no sean antimicrobianos e instó que el riesgo a la salud humana del uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo humano se evalúe correctamente. El grupo pidió una mejor vigilancia de la resistencia entre aislados de bacterias entéricas de animales destinados al consumo humano y alimentos de origen animal. Además, el grupo recomendó manejar el riesgo al nivel del productor por medio del uso prudente de antimicrobianos. (2,11)

#### 1998, Estudio de la OIE

El papel del comercio internacional de animales, sus productores derivados y sus alimentos en la velocidad de propagación de resistencia a antibióticos transferible y de los posibles métodos de control de propagación de factores de resistencia de agentes contagiosos.

Los resultados de una investigación anterior realizada por la OIE acerca de las actividades y capacidades existentes en la detección y en el control de la resistencia a antibióticos de los 50 países europeos se presentaron en 1998. Dichos resultados mostraron que se deben hacer esfuerzos adicionales para desarrollar programas oficiales de vigilancia y seguimiento de la resistencia antimicrobiana y para mejorar la armonización de metodologías de laboratorio, que a su vez mejorarán la fiabilidad y comparabilidad de datos de resistencia generados. El estudio reveló también que no siempre se usó un análisis de riesgos cuando las medidas sanitarias se consideraron por países. ( 2, 4,17)

#### 1998, Reunión de la OMS

La OMS celebró una reunión en junio de 1998, esta vez en Ginebra, Suiza, para tratar específicamente el uso de quinolonas en animales destinados al consumo humano. Los participantes concordaron que el uso de antimicrobianos causará que se desarrolle una resistencia y que existe un peligro potencial a la salud humana de organismos resistentes a Salmonella, E. coli, y Campylobacter transferidos a humanos por medio del suministro de alimentos. Los peritos también concluyeron que se necesita más información para evaluar con exactitud el riesgo asociado con el uso de estos productos en animales, pero apoyó el uso de quinolonas para tratar animales enfermos cuando sea necesario. (2,21)

#### 1999, Informes del Comité de Expertos de Unión Europea

El Comité Científico de Iniciativas de la Comisión Europea publicó un informe sobre la resistencia antimicrobiana en mayo de 1999. El Comité concluyó que se deben adoptar medidas inmediatamente para reducir el uso general de antimicrobianos en una manera equilibrada en todas las áreas. Se hicieron cuatro recomendaciones primarias: 1) los antimicrobianos se deben usar prudentemente, 2) las infecciones se deben prevenir y los organismos resistentes se deben contener, 3) se deben emprender investigaciones acerca de nuevas modalidades de prevención y tratamiento de infecciones y 4) los efectos de las intervenciones se deben controlar y evaluar. Basados en el trabajo en curso de este Comité y en otra información disponible, los ministros de agricultura en la UE votaron en diciembre de 1998 la prohibición de cuatro antibióticos que se usan extensamente a niveles no terapéuticos para promover el crecimiento animal. La prohibición de usar bacitracina de zinc, espiramicina, tilosina y virginamicina en el alimento animal entró en vigencia para los quince estados miembros de UE el 1º de julio de 1999.

El Comité para Productores Medicinales Veterinarios (CVMP) recomendó en su informe en julio de 1999 que se deben crear modelos para evaluar los riesgos de resistencia a los antibióticos que ocurren en animales y su potencial transferencia al hombre. El CVMP recomendó también una evaluación, previa a la venta, del potencial de antimicrobianos de causar el desarrollo de la resistencia, el desarrollo de estrategias para mantener la eficacia de productos veterinarios mientras se reduce el riesgo potencial a la salud pública y el desarrollo de políticas

de uso prudente. Con base en este informe, el plan estratégico para redactar pautas se adoptó en el CVMP en enero de 2000. (2, 17)

1999, Conferencia Internacional de la OIE acerca de la Resistencia Antimicrobiana.

La Oficina Internacional de Epizootias (OIE) celebró una conferencia internacional en marzo de 1999 sobre la resistencia antimicrobiana para promover el intercambio entre las partes interesadas y el personal directo en los campos de medicina humana y animal. La conferencia enfatizó la necesidad de seguir los procedimientos de los análisis de riesgos y aplicar los principios científicos al manejar la resistencia antimicrobiana. Se plantea una segunda conferencia en octubre de 2001 para revisar el progreso logrado en la comprensión del desarrollo de la resistencia antimicrobiana en humanos y en animales, los problemas encontrados en ambas medicinas, humana y veterinaria, y las medidas tomadas por autoridades reguladoras y otros para la contención de la resistencia antimicrobiana. (2, 17)

1999, Informe del Comité Conjunto Consultivo de Expertos Técnicos sobre la Resistencia a los Antibióticos (JETACAR)

En 1998, los Ministros de Servicios de Salud y Familias y de Industrias y Energía Primarias de Australia designaron y encomendaron al JETACAR a examinar el asunto de la resistencia antimicrobiana desde un punto de vista científico. El Comité se componía de peritos en salud

pública, medicina humana y veterinaria, biología molecular e industrias primarias. El comité revisó la evidencia científica de la relación entre el uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano, la aparición y la selección de bacterias resistentes a antibióticos y su propagación a humanos, e hizo recomendaciones para la administración futura apropiada del uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano. Se invitó a las partes interesadas clave a proporcionar aportes en forma de datos científicos durante las deliberaciones del Comité, y también al informe en borrador, que se publicó en marzo de 1999. El informe final se publicó en septiembre de 1999. El JETACAR concluyó que existe un peligro a la seguridad de los alimentos y a la salud humana por el uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano, lo cual se debe comparar contra el valor de los antibióticos a la medicina veterinaria, a la productividad de los alimentos y al bienestar animal.

La respuesta del Gobierno de la Confederación al informe del JETACAR se publicó en agosto de 2000 por los Departamentos australianos de Salud y Cuidados de la Vejez y de Agricultura, Pesca y Silvicultura. En su respuesta, el Gobierno de la Confederación reconoce la amenaza de organismos resistentes a antibióticos a la salud humana y apoya enteramente la intención de las recomendaciones del JETACAR. LA respuesta del Gobierno enfatiza la necesidad de un enfoque coordinado y equilibrado para el mejor manejo del uso de antibióticos en humanos y en animales destinados al consumo humano. El gobierno de la Confederación concordó en establecer dos grupos para llevar a cabo el

plan, un Grupo Asesor de Expertos en Antibióticos bajo los auspicios del Consejo de Salud Nacional e Investigación Médica y un grupo de Ejecución Interdepartamental del JETACAR para supervisar y coordinar la respuesta continua del Gobierno al JETACAR. (2)

2000, Principios Globales de la OMS para la Contención de la Resistencia Antimicrobiana en Animales Destinados al Consumo Humano

La OMS realizó una consulta experta en junio de 2000 con la participación de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Oficina Internacional de Epizootias para desarrollar los principios globales para contener la resistencia antimicrobiana en animales destinados al consumo humano. El propósito de la consulta de expertos y el desarrollo de principios globales es aminorar el impacto negativo en la salud pública del uso de agentes antimicrobianos en animales destinados al consumo humano, mientras al mismo tiempo se asegura de su uso seguro y efectivo en la medicina veterinaria. Los principios proveen un marco de recomendaciones para reducir el abuso y el uso inadecuado de antimicrobianos en animales destinados al consumo humano para la protección de la salud humana. Los principios forman parte de una estrategia global exhaustiva de la OMS para contener la resistencia antimicrobiana. Los principios fortalecen y aprueban recomendaciones anteriores de la OMS tales como la necesidad de acabar con el uso de promotores de crecimiento

antimicrobianos en espera de las evaluaciones exhaustivas sobre la seguridad de la salud humana y la necesidad de establecer sistemas de vigilancia en el consumo de antimicrobianos. (2, 11)

2000, Grupo de Expertos de la OIE sobre la Resistencia Antimicrobiana

A petición del Comité Internacional de la OIE, en Enero del 2000 se estableció un Grupo de Peritos de la OIE sobre Resistencia Antimicrobiana. Con la participación de la FAO y de la OMS, el Grupo de Peritos de la OIE elaboró las siguientes cinco pautas sobre la resistencia antimicrobiana:

- Metodología de la evaluación de riesgos para el impacto potencial en la salud pública de bacterias resistentes a antimicrobianos de origen animal;
- Empleo prudente y responsable de los agentes antimicrobianos en la medicina veterinaria;
- Control de las cantidades de antimicrobianos utilizados en la cría de animales;
- Armonización de los programas nacionales de control y vigilancia de la resistencia antimicrobiana en animales y en sus alimentos derivados;
- Estandarización y armonización de las metodologías de laboratorio empleadas para la detección y cuantificación de la resistencia antimicrobiana. (2,17)

#### **4.6. FUNDAMENTOS PARA LA INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN**

Para cada antimicrobiano se establecen “concentraciones críticas” o “puntos de corte” que permiten separar a los microorganismos infectados en tres categorías, sensibles, resistentes o de sensibilidad intermedia, según si la

concentración requerida para la inhibición del desarrollo de cada uno de ellos (CIM) es inferior o no a dichas concentraciones. (5)

**Sensible:** Un microorganismo se considera “sensible” a un antibiótico cuando se puede esperar que una infección causada por el microorganismo responda al tratamiento con dicho fármaco a la dosis recomendada.

**Resistente:** este término indica que no es probable que la infección causada por el microorganismo responda al antibiótico en cuestión, cualesquiera que sean la dosis y la localización de la infección.

La categoría **sensibilidad intermedia** se aplica a dos situaciones. Por un lado, se incluye en ella las cepas con sensibilidad disminuida a un antibiótico que puede utilizarse con éxito, para el tratamiento en dosis más altas, por ser poco tóxico o porque se concentra en el foco de infección (por ejemplo, antibióticos beta-lactámicos o quinolonas en la orina). (5)

En esta categoría se incluyen asimismo las cepas de “sensibilidad intermedia” a antibióticos que, por ser más tóxicos, no puede usarse en dosis más altas. En este caso, la categoría intermedia sirve como una zona de transición entre las cepas sensibles y las resistentes y previene pequeños factores técnicos que pueden llevar a resultados de sensibilidad erróneas. Muchas veces un resultado intermedio requiere la definición de la sensibilidad mediante el uso de un método cuantitativo como la CIM. (5)

La decisión definitiva sobre el uso de un determinado antibiótico y sobre la dosificación del mismo no sólo depende de los resultados de la pruebas de sensibilidad sino también de la interpretación de éstas por el equipo de salud. También habrá que tener en cuenta otros factores como la importancia

patogénica del microorganismo, los efectos secundarios y las propiedades farmacocinéticas del medicamento, su difusión en las diferentes regiones del cuerpo y el estado inmunitario del huésped. (5,15)

#### **4.6.1. Identificación bacteriana:**

Para evaluar en forma cuantitativa la actividad de un antibiótico se debe enfrentar el microorganismo problema a una serie de diluciones de la droga en estudio. La concentración más baja del antimicrobiano que impide el crecimiento bacteriano después de una noche de incubación se considera como la “concentración inhibitoria mínima” o CIM del fármaco.

La interpretación de las pruebas de sensibilidad no puede estar dissociada de la identificación bacteriana. Por ejemplo, una CIM de penicilina mayor a 1 ug/ml es indicativa de resistencia si el microorganismo en estudio es un neumococo, mientras que un enterococo, con CIMs hasta 16 veces superior, es considerado sensible a la misma droga.

Por el contrario, la resistencia intrínseca puede ser extremadamente útil para corregir o confirmar la identificación bacteriana. Por otra razón, frecuentemente se ensayan in vitro ciertos antimicrobianos que no son terapéuticamente útiles pero contribuyen con el control de calidad de la identificación bacteriana. Los resultados obtenidos con estos antibióticos nunca deben ser informados al médico. (6)

#### **4.6.2. Frecuencia de las pruebas:**

Cada vez que se introduce un nuevo lote de discos de antimicrobianos a la rutina, este se debe ensayar con las cepas patrón de control de calidad apropiadas.

Las cepas patrón de control de calidad se deben probar semanalmente y cada vez que se cambie cualquier reactivo que intervenga en la realización de las pruebas de sensibilidad; los discos de antibiótico a ensayar deben ser los mismos que se utilizan de rutina para los aislamientos clínicos. Cuando un ensayo de como resultado halos de inhibición que estén fuera del rango aceptable, se deben tomar medidas correctivas. Si la desviación se puede atribuir a un error obvio, como por ejemplo discos o cepas de control anómalos, contaminación de la cepa control o atmósfera de incubación incorrecta, se debe repetir la prueba de control de calidad.

Si dicha desviación no se puede atribuir a un error obvio, se debe continuar con los controles de calidad diariamente hasta detectar la fuente de error y documentar la solución del problema. (6)

#### **4.7. FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

Entre los diversos factores que pueden afectar la actividad antimicrobiana en vitro, deben considerarse los siguientes, ya que influyen significativamente en el resultado de las pruebas. (5,6,9)

##### **4.7.1 pH del medio:**

Algunos medicamentos son más activos a pH ácido (por ejemplo, Nitrofurantoína); otros a pH alcalino (por ejemplo, aminoglucósidos, sulfonamidas). (6,9)

##### **4.7.2. Componentes del medio:**

El sulfonato de polianetol sódico y otros detergentes aniónicos inhiben a

Los aminoglucósidos notoriamente. PABA en extractos tisulares antagoniza a las sulfonamidas. Las proteínas séricas fijan a las penicilinas en grado variable, yendo desde 40% para la meticilina hasta 98% para la dicloxacilina. (6,9)

#### **4.7.3. Estabilidad de los medicamentos:**

A la temperatura de la incubadora varios agentes antimicrobianos pierden su actividad. La clorotetraciclina se inactiva rápidamente y la penicilina más lentamente, mientras que los aminoglucósidos y el cloranfenicol son bastante estables por largos periodos. (6,9)

#### **4.7.4. Tamaño del inóculo:**

En general, cuanto más grande sea el inóculo bacteriano, más baja será la “sensibilidad” aparente del microorganismo. Las grandes poblaciones bacterianas se inhiben en forma menos rápida y completa que las pequeñas; además, es mucho más probable que una mutante resistente surja en las grandes poblaciones. (5,9)

#### **4.7.5. Duración de la incubación:**

En muchos casos los microorganismos no mueren cuando se exponen un tiempo corto a los agentes antimicrobianos, sino que solamente se inhibe su multiplicación. Cuanto más tiempo se prolonga la incubación, mayor es la oportunidad que tiene de presentarse las mutantes resistentes o mayor es la oportunidad de los miembros menos sensibles de la población bacteriana de empezar a multiplicarse tan pronto como el medicamento se descompone. (5,9)

#### **4.7.6. Actividad metabólica de los microorganismos:**

En general, los microorganismos que crecen rápida y activamente son más sensibles a la acción de los medicamentos que aquellos que se encuentran en la fase

de reposo. Las bacterias “persistentes” son aquellas metabólicamente inactivas, las cuales sobreviven a exposición largas a los medicamentos, pero cuya descendencia es completamente susceptible al mismo medicamento. Una forma especializada de microorganismos “persistentes” pueden ser las forma L de las bacterias. Bajo el tratamiento con ciertos medicamentos que inhiben la formación de la pared celular, las formas deficientes en la misma pueden desarrollarse en algunos tejidos que poseen propiedades osmóticas adecuadas (por ejemplo, médula de riñón). Estos protoplastos pueden persistir en los tejidos mientras se administra el medicamento (por ejemplo, penicilina) y posteriormente regresar a las formas bacterianas intactas, dando lugar a recaídas de la enfermedad. (5,9)

#### **4.8. MEDIOS DE CULTIVO**

##### **4.8.1. Agar MacConkey**

El medio de cultivo corresponde en gran medida a la European Pharmacopoeia II, además de las prescripciones analíticas apartado 35 de la LMBG para la investigación de alimentos.

##### **Forma de Actuación**

Este caldo contiene lactosa, cuya degradación a ácido y formación de gas señalan, por definición la presencia de E. coli. El gas formado es recogido en tubos (campanas) de DURHAM, comprobándose el ácido formado mediante el viraje a amarillo del indicador Púrpura de bromocresol. La bilis de buey favorece el crecimiento de algunas bacterias intestinales e inhibe a los microorganismos no intestinales.

**Preparación del Agar MacConkey:**

Disolver 50 g/litro, esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C) y verter en placas.

PH: 7,1 +-0,1.

Los medios de cultivo preparados son claros y de color rojo parduzco.

**Control de calidad del medio de cultivo**

Cepas de ensayo	Crecimiento	Viraje a amarillo	Formación de gas
<u>Escherichia coli</u> ATCC 25922	Bueno	+	+
<u>Escherichia coli</u> ATCC 11775	Bueno	+	+
<u>Escherichia coli</u> ATCC 8739	Bueno	+	+
Enterobacter cloacae ATCC 13883	Bueno	+	+
Klebsiella pneumoniae ATCC 14273	Bueno	+	+
Proteus mirabilis ATCC 14273	Bueno	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Moderado	-	-
Staphylococcus aureus 25923	Moderado	-	-

#### 4.8.2 Preparación del Agar Mueller-Hinton:

Disolver 34 g/litro, esterilizar con cuidado en autoclave (10 minutos a 115°C). Luego verter en placas.

PH: 7,4 +-0,2.

Las placas con medio de cultivo sin la sangre son claras y de color parduzco opalescente.

De los medios disponibles se considera el agar Mueller-Hinton el mejor para

las pruebas de sensibilidad de rutina dado que:

- a) Muestran buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad
- b) Contiene bajo nivel de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclina.
- c) Es adecuado para el desarrollo de la mayoría de las bacterias patógenas. (5)

Para el ensayo de la sensibilidad, o para ensayos de resistencia de agentes patógenos médicamente importantes frente a antibióticos y sulfamidas, según Mueller y Hinton (1941).

Estos medios de cultivo corresponden a las exigencias de la OMS (1961,1977) y a la Norma DIN 58940.

El agar MUELLER-HINTON se utiliza para la realización del ensayo de difusión en placas, en tanto que el caldo MUELLER-HINTON se ha previsto para la determinación de la “Mínima Concentración Inhibidora” en el ensayo de diluciones seriadas. (13)

#### 4.8.3. Forma de actuación:

La composición de estos medios de cultivo garantiza, por una parte, condiciones favorables de crecimiento y por otra parte, cuenta con la ausencia, muy considerable, de antagonistas de las sulfamidas.

Para mejorar de forma considerable el crecimiento de microorganismos exigentes, puede añadirse sangre al Agar MUELLER-HINTON. Esto puede sin embargo, según JENKIND y col. (1985), conducir a resultados erróneos en el ensayo de Enterococos frente a aminoglicósidos. (13)

#### 4.8.4. Composición (g/litro) del Agar Mueller-Hinton:

Infusión de carne 2,0; hidrolizado de caseína 17,5; almidón 1,5; Agar-agar

13,0. (13)

#### 4.8.5. Control de calidad del Agar Mueller-Hinton

Discos de ensayo	Diámetro del halo de inhibición en mm según la OMS			
	Cepas de ensayo			
	Esch. coli ATCC 25922	Staph. aureus ATCC 25923	Pseud. aerugin. ATCC 27853	Enteroc. faecalis ATCC 33186
Ampicilina 10 pg	15-20	24-35	-	-
Tetraciclina 30 pg	18-25	19-27	-	-
Gentamicina 10 pg	19-26	19-27	16-21	-
Polimixina B 300 UI	12-16	7-13	-	-
Sulfametoxazol 1,25 pg + Trimetoprim 23,75 pg	24-32	24-32	-	16-23

(13)

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

#### 5.1.1. Recursos Humanos

Técnicos de Laboratorio de Microbiología de la Facultad Medicina y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Estudiante investigador

Asesores del estudio

#### 5.1.2. Recursos Biológicos

100 muestras de carne molida de res. 10 g./muestra

#### 5.1.3. Recursos de Laboratorio

Refrigeradora

Incubadora

Balanza

Autoclave

Mechero de Bunsen

Asa para siembras bacteriológicas

Nefelometro McFarland

Tijeras estériles

Pinzas estériles

Probetas calibradas

Pipetas calibradas

Tubos de ensayo

Cajas de petri descartables

Regla graduada en milímetros

Cepa control de E. coli ATCC 25922

Agar MacConkey

Agar Mueller Hinton

Discos de sensibilidad Antimicrobial

Antibióticos (Ampicilina, Amikacina, Sulfisoxazol, Gentamicina,

Cloranfenicol, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Tetraciclina, Acido

Nalidíxico, Estreptomicina, Kanamicina,

Trimetoprim/sulfametoxazol)

Agua destilada

Solución salina peptonada

Hielera

Marcador permanente

Hisopos estériles

Bolsas plásticas estériles de 100 ml

Cuchillo estéril

#### **5.1.4 Recursos físicos**

Equipo de oficina (computadora, papel bond, diskettes, etc.)

Vehículo

Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina

Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de

Guatemala.

Fichas de campo

### **5.1.5 Centros de Referencia**

- Departamento de Microbiología ( Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia)
- Biblioteca de OPS/OMS (Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud)
- COGUANOR, Ministerio de Economía

## **5.2. Metodología**

### **5.2.1. Diseño de Estudio**

Se realizó un muestreo por conveniencia de las carnicerías de carne de res de los mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala, el estudiante investigador recolectó las muestras hasta alcanzar un total de 100 muestras durante 1 mes.

En cada carnicería de los mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala, se compró cuatro onzas de carne molida de res, debidamente identificada y se trasladó en hielera al laboratorio para su posterior procesamiento.

### **5.2.2. Recolección de la muestra**

Dos veces por semana durante 4 semanas se visitaron los mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala, se obtuvo una muestra de carne molida de cuatro onzas de todas las carnicerías de estos mercados hasta alcanzar 100 muestras,

dichas muestras se guardaron en bolsas plásticas identificadas y numeradas, se trasladaron en hielera al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para su posterior procesamiento.

### **5.2.3. Procesamiento de la muestra en el laboratorio**

#### **5.2.3.1. Procesamiento para el aislamiento de E. coli.**

Se pesaron 10 gramos de cada muestra en forma estéril y se colocó en tubos con caldo nutritivo; se homogenizó. Luego se colocaron estos tubos debidamente identificados con las muestras en incubación a 37°C durante media hora hasta que se sedimentó, ya se tenían preparadas las placas con agar McConkey se identificaron con fecha y número de la muestra recolectada, luego con una pipeta estéril se tomó aproximadamente una gota y se colocó en las placas con agar McConkey .

Se sembraron las placas por el procedimiento de estria.  
Incubación: 18-24 horas a 37°C.

Las colonias de Escherichia coli fueron grandes, rojas, halo turbio y lactosa positiva.

De las colonias con las características anteriores se tomaron una muestra para realizar la identificación bioquímica sembrando los medios de cultivo: SIM, MRVP y Simmons Citrato.

Para identificar las muestras se elaboró una boleta para el efecto. (Anexo 1)

#### **5.2.4. Procedimiento para la realización del test de Difusión en Disco.**

##### **5.2.4.1. Preparación del Inóculo**

###### **Método de desarrollo previo:**

Se seleccionaron 4 ó 5 colonias bien aisladas de igual morfología de la placa de cultivo. Se preparó una suspensión en 4 ó 5 ml de un caldo apropiado ( por ejemplo: B.H.I.) tocando la parte superior de cada colonia.

Incubar a 37°C hasta que este alcance o exceda la turbidez del estándar (2-6 hr).

Luego se ajustó la turbidez del inóculo con solución salina o caldo hasta el tubo 0,5 de la escala de Mc. Farland, por comparación visual con el estándar. Para ello, se observaron los tubos contra un fondo blanco con una línea negra como contraste.

##### **5.2.4.2. Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo se sembraron las placas de Mueller Hinton con un hisopo estéril. Se presionó el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso del inóculo.

Se inocularon la superficie seca del medio Mueller Hinton por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. Las zonas de inhibición fueron uniformemente circulares y el desarrollo confluyente o casi confluyente.

### **5.2.4.3 Aplicación de los discos de antibióticos en las placas inoculadas**

Se colocaron los discos sobre la superficie del agar inoculada con pinza estéril aplicando una ligera presión a una distancia no menor a 24 mm desde un centro al otro. Debido a que algunas drogas se difunden casi instantáneamente, un disco no debe ser removido una vez que se tomó contacto con la superficie del agar. Se colocaron 12 discos por placa de 150 mm.

Luego se incubaron las placas invertidas a 37°C dentro de los 15 minutos posteriores a que los discos fueron aplicados, las placas no fueron incubadas en concentraciones incrementadas de CO<sub>2</sub> porque alteraría significativamente el tamaño de las zonas inhibitorias para algunos agentes antibióticos.

**5.3****INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

Para establecer los límites de los halos de inhibición, la lectura se efectuó según el estándar de inhibición de cada disco utilizado. Para esta interpretación nos guiamos por la siguiente tabla. Dependiendo de la medida del halo, los resultados se interpretaron como sigue:

- Sensible ( S )
- Intermedia ( I )
- Resistente ( R )

Los resultados obtenidos se anotaron en la boleta elaborada para el efecto. (Anexo 2.)

• **CUADRO PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS  
OBTENIDOS EN LOS ANTIBIOGRAMAS**

<b>ANTIBIÓTICO</b>	<b>RESISTENTE</b> <b>Halo en mm</b>	<b>INTERMEDIO</b> <b>Halo en mm</b>	<b>SENSIBLE</b> <b>Halo en</b> <b>mm</b>
Ampicilina	≤ 13	14-16	≥ 17
Amikacina	≤ 14	15-16	≥ 17
Sulfisoxasol	≤ 12	13-16	≥ 17
Gentamicina	≤ 12	13-14	≥ 15
Cloranfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
Ceftriaxona	≤ 13	14-20	≥ 21
Ciprofloxacina	≤ 15	16-20	≥ 21
Tetraciclina	≤ 14	15-18	≥ 19
Acido Nalidíxico	≤ 13	14-18	≥ 19
Estreptomina	≤ 11	12-14	≥ 15
Kanamicina	≤ 13	14-17	≥ 18
Trimetoprim/ Sulfametoxasol	≤ 10	11-15	≥ 16

#### 5.4 ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó una estimación porcentual del grado de resistencia a las cepas de Escherichia coli a los diferentes antibióticos en prueba.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las muestras procesadas en el 100% de las mismas creció Escherichia coli con otras bacterias. Únicamente en 17 muestras creció solo E. coli por lo que fueron éstas las muestras en las que se realizó el antibiograma, encontrando los siguientes resultados.

ANTIBIÓTICO	RESISTENTE (%)	INTERMEDIO (%)	SENSIBLE (%)
Ampicilina	23	12	65
Amikacina	0	0	100
Sulfisoxasol	6	6	88
Gentamicina	0	0	100
Cloranfenicol	0	6	94
Ceftriaxona	0	0	100
Ciprofloxacina	0	0	100
Tetraciclina	0	35	65
Acido Nalidíxico	0	6	94
Estreptomicina	6	18	76
Kanamicina	0	0	100
Trimetoprim/ Sulfametoxasol	0	0	100

El antibiótico que presentó alto porcentaje de resistencia fue la Ampicilina con un 23%, también otros antibióticos que presentaron un 6% de resistencia fue Sulfisoxasol y Estreptomicina. Los que presentaron menos porcentaje de resistencia o sea los más sensibles fueron; Amikacina, Gentamicina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Kanamicina, Trimetoprim/sulfametoxasol con un 100% de sensibilidad. Por tal razón estos 6 antibióticos

que presentaron 100% de sensibilidad son los más recomendados en casos de infecciones por Escherichia coli en bovinos, porque no presentarán ninguna resistencia en el organismo a dichos antibióticos. Los resultados fueron muy satisfactorios ya que las cepas de E. coli presentes en la carne de bovino no mostraron en su mayoría resistencia a los antibióticos lo cual nos permite utilizar eficientemente varios antibióticos en el tratamiento de las infecciones por E coli.

Para la interpretación de resultados se elaboró una gráfica para el efecto.

(Anexo 3 )

## CONCLUSIONES

El 100% de las muestras presentó contaminación con Escherichia coli.

De los doce antibióticos estudiados, en las cepas de Escherichia coli aisladas, presentaron resistencia solo la Ampicilina un 23% al Sulfisoxazol y Estreptomicina un 6% de resistencia.

El 100% de sensibilidad solo se obtuvo en Amikacina, Gentamicina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Kanamicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol.

### VIII. RECOMENDACIONES

1. No usar continuamente antibióticos en veterinaria, porque pueden mantener la microbiota animal resistente.
2. Es recomendable en casos de infecciones por Escherichia coli en los animales, usar antibióticos que se han sometido a estudios de antibiogramas por ejemplo los estudiados en este trabajo que presentaron 100 % de sensibilidad (Amikacina, Gentamicina, Ceftriaxona, Ciprofloxacina, Kanamicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol)
3. No utilizar Ampicilina en caso de infecciones por Escherichia coli, porque han presentado un 23% de resistencia en este estudio.
4. Se recomienda realizar otros estudios en carne de bovino utilizando otros microorganismos contaminantes de la misma.
5. Llevar a cabo programas de buenas prácticas de manufactura en todo el proceso de la carne de bovino.

## RESUMEN

El presente estudio de la resistencia a los antibióticos de las cepas de Escherichia coli aisladas de carne molida de res procedentes de mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala se efectuó de la siguiente manera.

En primer lugar se recolectaron las 100 muestras de carne molida de res, comprando 4 onzas en cada carnicería de los mercados visitados de los cuales fueron: mercado reformita con un total de 5 carnicerías, mercado la florida con 7 carnicerías, mercado rooselvet zona 11 con 8 carnicerías, mercado la palmita zona 5 con 13 carnicerías, mercado la villa zona 10 con 5 carnicerías, mercado colon con 10 carnicerías, mercado el guarda con 15 carnicerías, mercado central con 10 carnicerías, mercado la terminal con 15 carnicerías, mercado la parroquia con 12 carnicerías. Todas estas muestras fueron llevadas en hielera debidamente identificadas al laboratorio de microbiología de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia, para su procesamiento.

Los antibiogramas se realizaron solo a 17 de los 100 cultivos de E. coli que crecieron sin otros contaminantes o sea que no presentaron en esas placas el crecimiento de otro microorganismo para evitar alteración de resultados. Los resultados se interpretaron en porcentajes, siendo la Ampicilina la única que presentó resistencia con un 23%, seguida de Sulfisoxazol y Estreptomicina un 6%.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Brewer, S. 1998. *Escherichia coli*. Estados Unidos, The National Food Safety Database. 3 p. Tomado de Internet: <http://www.foodsafety.org>.
2. Comisión del Codex Alimentarius (13., 2001, Charleston, Carolina del sur, US.) 2001. Documento de Debate sobre la Resistencia Antimicrobiana en la producción Animal. [Reunión]. Ed. Por La Comisión del Codex Alimentarius. Charleston, Carolina del Sur, EE.UU., FAO/OMS. 13 p.
3. Comisión Guatemalteca de Normas (Gua.) 1984. Carne y productos Cárnicos: Análisis microbiológico. Detección y recuento de bacterias coliformes y *Escherichia coli*. Guatemala, COGUANOR. 10 p. (NGO 34 125h11).
4. Conferencia de La UE “The Microbial Threat” Taller no. 3 1998- septiembre 08. Tomado de Internet: <http://www.microbial.threat.dk>
5. Curso Internacional de Entrenamiento Sobre Vigilancia de *Salmonella* y Resistencia Antimicrobiana en Patógenos Transmitidos por Alimentos: Manual de Procedimientos para la Determinación de la sensibilidad a los Antimicrobianos. (2001, mérida, yucatán, mex.). 2001. Sección I. Control de calidad para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por método de difusión. Ed. Por Marcelo Galas. Mérida, Yucatán, Mex., USDA AGRICULTURE/ Fundación Mexicana para la Salud. Capitulo Peninsular / Secretaria de Salud/ INEI/CIAD, A.C. p. 1-2.
6. ----- (2001, mérida, Yucatán, mex.). 2001. Limitación del Método de difusión por discos. Mérida, Yucatán, Mex. USDA AGRICULTURE/ Secretaria de Salud / INEI / CIAD, A.C. p. 14-15.
7. Hindler, JA.; Jorgensen, JH. 1995. Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia, EE.UU., W.B. Saunders Co. p. 58-96.
8. Jacques, N. 1986. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. Ed. por Zaragoza, España, Acribia. p. 8-12.
9. Jawetz, E. 1996. Microbiología médica. Trad. Jorge A. Mérido Fane. 15 ed. México, Manual Moderno. 807 p.
10. Jeljaszewicz, J.; Hawiger, J. 1966. The Resistance to Antibiotics of strains of *Streptococcus viridans*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* and *Klebsiella* Isolated in Poland. Bulletin of the world health organization (Italia) 35 (2): p. 243- 246.
11. The Medical impact of the use of antimicrobials in food animals. 1997. Informe de una Reunión de la OMS. Berlín, Alemania, s.n. Tomado de Internet: <http://www.who.int/emc-documents/antimicrobialhtml>

12. Madigan, M.T.; Matinko, J. M.; Parker, J. 1999. Biología de los Microorganismos. Trad. Mariano Gacto Fernández y otros. 8ed. Madrid, Prentice may. p. 422-427.
13. Manual de medios de cultivo. 1994. Alemania, Merck. p. 121- 126.
14. El Manual Merck de veterinaria: un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades para el veterinario. 1993. Trad. Translation Co. Of America. 4 ed. Barcelona, España, OCÉANO/CENTRUM. p. 1632-1634.
15. Método para evaluar la efectividad antimicrobiana. 1989. In Diagnóstico microbiológico. Finegold S.M., Baron EJ, ed. Bailey Scott. Bogotá, col., Editorial Médica Panamericana., p. 190-210.
16. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests-Sixth Edit; approved Standard. NCCLS document M2-A6. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898. vol. 17 No.1
17. Guidelines for the control of Antimicrobial Resistance. 2000. s.l., OFICINA INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS. 5 p. Tomado de Internet: [http://www.oie.int/press/a\\_001221.html](http://www.oie.int/press/a_001221.html).
18. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. 1985. In Diagnóstico microbiológico. Koneman E.W.; Allen S.D.; Dowell, V.R.; Sommers H.M. Ed. Bogotá, col., Editorial Médica Panamericana. p. 380-402.
19. Resistencia a los antibióticos. 2001. 4 p. Tomado de Internet: <http://www.biodiversidad.or/redlat61.htm>.
20. Ringertz, S. 1990. Antibiotic Susceptibility of Escherichia coli Isolate from inpatients with urinary tract infections in hospitals in Addis Abeba and Stockholm. Bulletin of The World Health Organization (Italia) 68 (1): 61-68 p.
21. Use of quinolones in food animals and potential impact on human health.1998. Ginebra, Suiza, s.n.f. 5 p. Tomado de Internet: [http://www.oie.int/eng/press/a\\_001221.html](http://www.oie.int/eng/press/a_001221.html).

# **XI. ANEXOS**

**ANEXO 1.**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS  
CEPAS DE Escherichia coli AISLADAS DE CARNE MOLIDA DE RES  
PROCEDENTES DE MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE  
GUATEMALA, MEDIANTE EL METODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

**IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS**

FECHA \_\_\_\_\_ Hora \_\_\_\_\_ No. \_\_\_\_\_

—

TIPO \_\_\_\_\_ DE

MUESTRA \_\_\_\_\_

PROCEDENCIA \_\_\_\_\_

—

TIPO \_\_\_\_\_ DE

ANÁLISIS \_\_\_\_\_

RESULTADOS \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

—

\_\_\_\_\_

Firma Responsable

## ANEXO 2.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE  
**Escherichia coli** AISLADAS DE CARNE MOLIDA DE RES PROCEDENTES DE  
MERCADOS MUNICIPALES DE LA CIUDAD CAPITAL DE GUATEMALA, MEDIANTE  
LA PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO.

### HOJA DE RESULTADOS

Sensibilidad por el Método de difusión en disco

No. \_\_\_\_\_ Procedencia \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

INSTRUCCIONES: Medir los halos de inhibición (HI) para cada antibiótico.

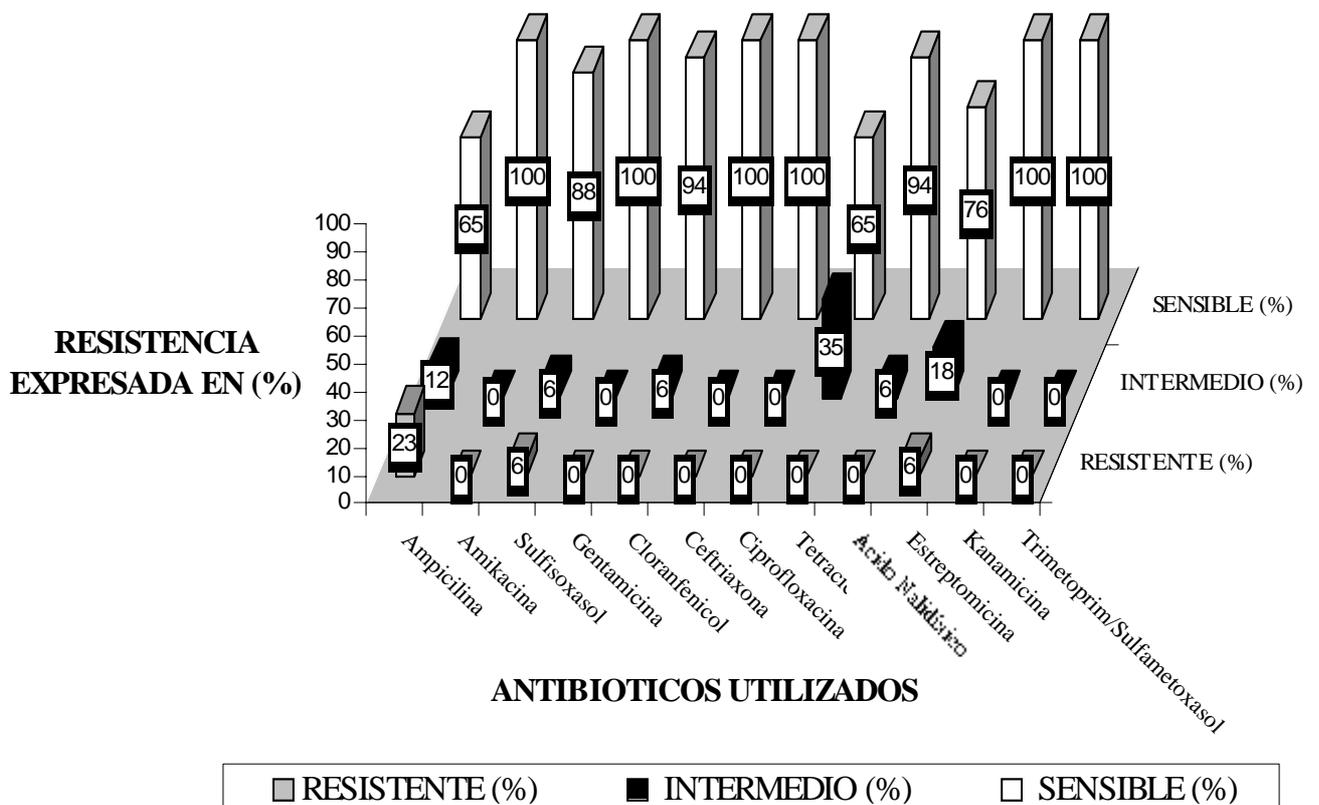
**En el caso de cepa control E. coli ATCC 25922, registrar los mm. Si el valor está dentro del rango establecido por la NCCLS anotar “OK”; de lo contrario, anotar la diferencia en mm. Para las cepas prueba, registrar los HI en mm y en la columna “Cat” (categoría) anotar la interpretación, escribiendo S (Sensible), I (Intermedia) ó R (Resistente) según sea el caso.**

Antibiótico	E. coli AT CC 25922*		Cepa No.	
	mm	Rango	mm	Cat.
Ampicilina				
Amikacina				
Sulfisoxazol				
Gentamicina				
Cloranfenicol				
Cefriaxona				
Ciprofloxacina				
Tetraciclina				
Acido Nalidixico				
Estreptomina				
Kanamicina				
Trimetoprim/ Sulfametoxazol				

\* Cepa control elaborada en el departamento de microbiología de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia.

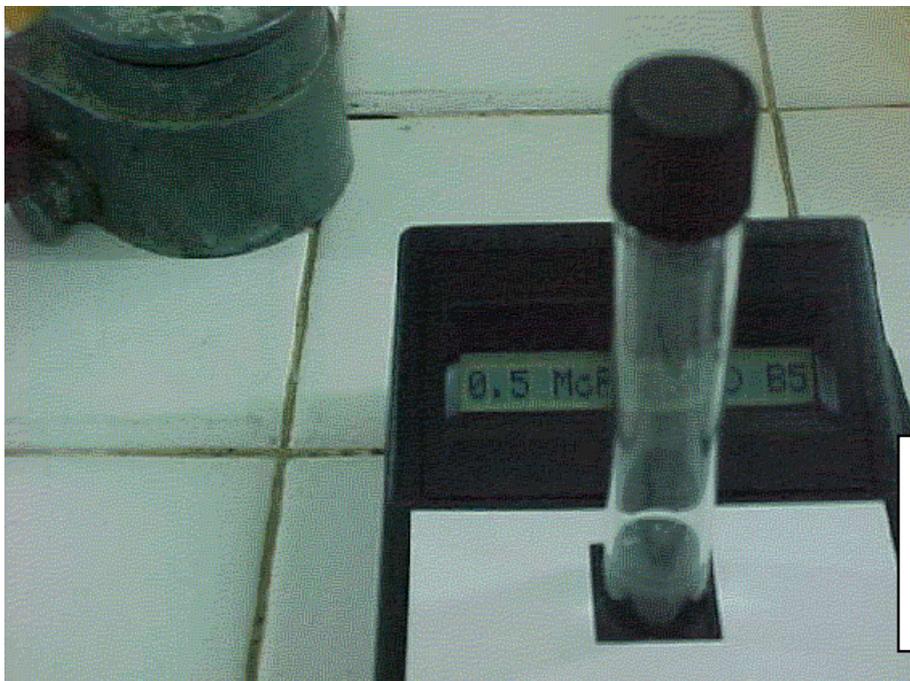
ANEXO 3.

COMPORTAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE LAS  
CEPAS DE Escherichia coli





FOTOGRAFIA 1:

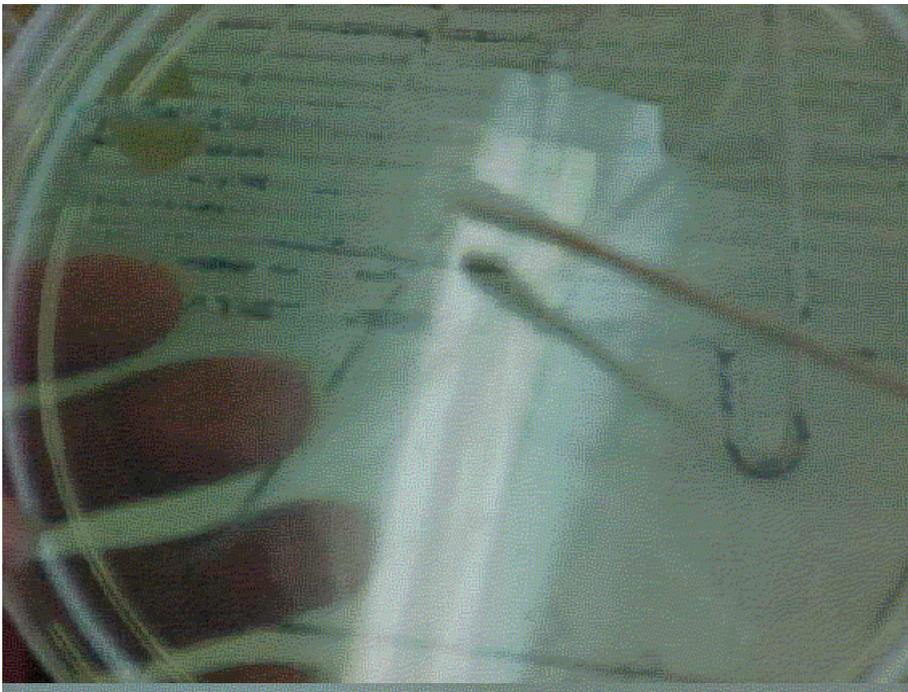


FOTOGRAFIA 2:



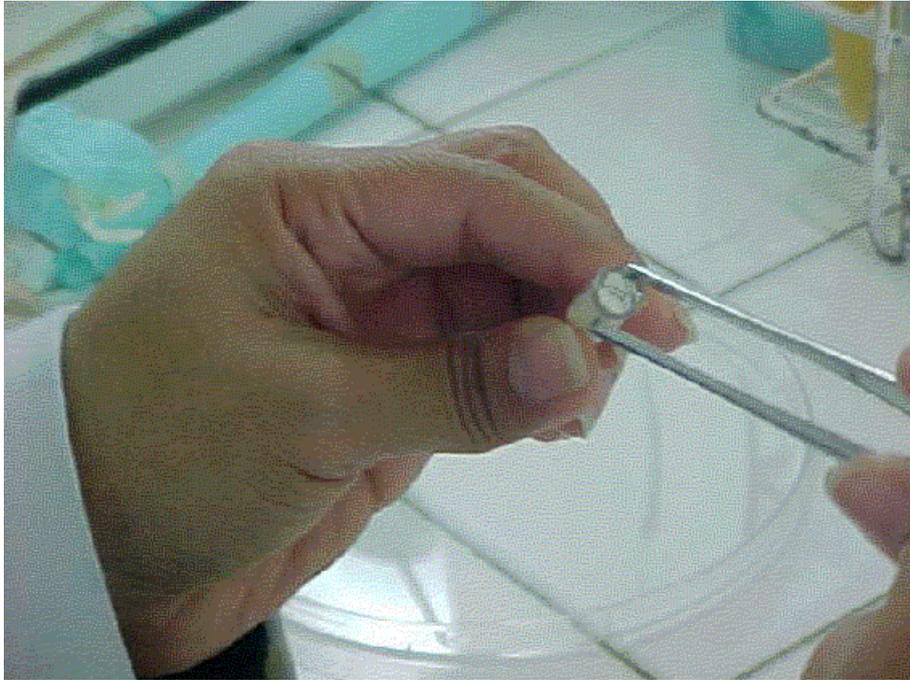
Inoculación  
del inóculo  
( E. coli )  
en la  
superficie  
del agar  
Mueller  
Hinton

FOTOGRAFIA 3:



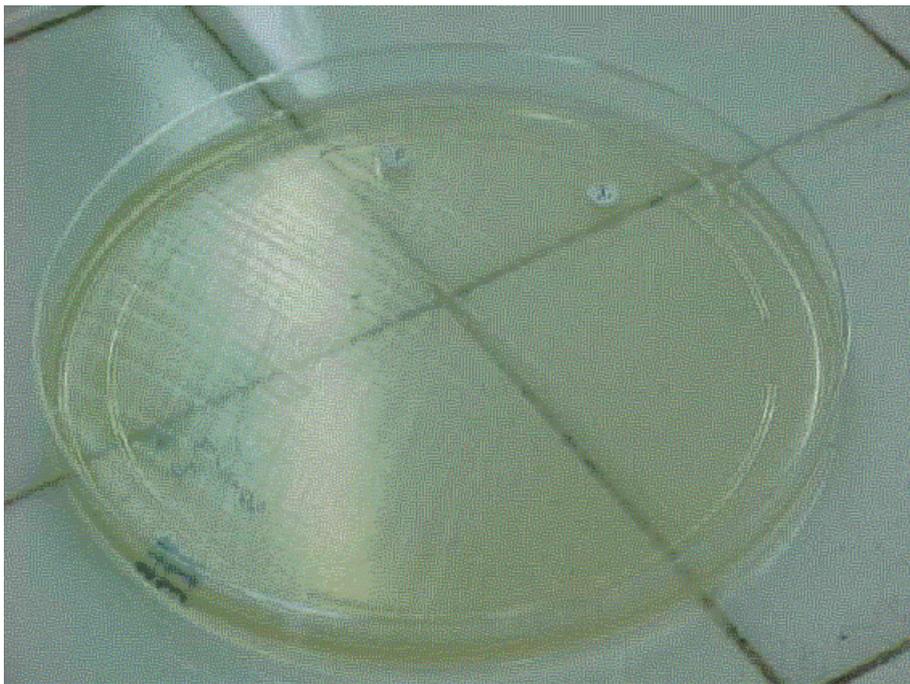
Obtención  
del inóculo  
( E. coli )  
en la  
superficie  
del Agar  
Mueller  
Hinton

FOTOGRAFIA 4:



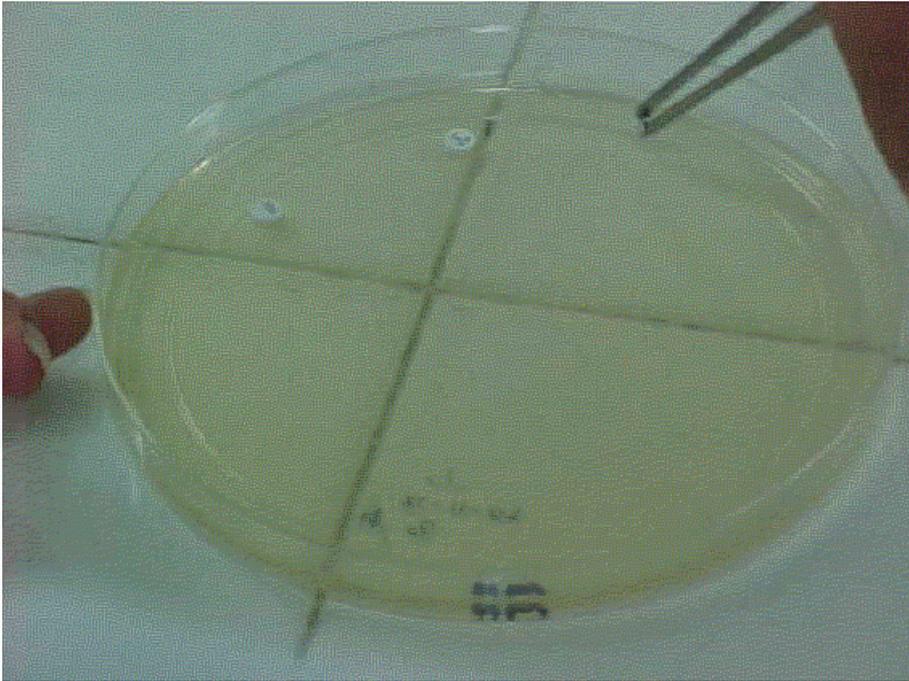
Extracción  
del disco de  
antibióticos  
del  
dispensador

FOTOGRAFIA 5:



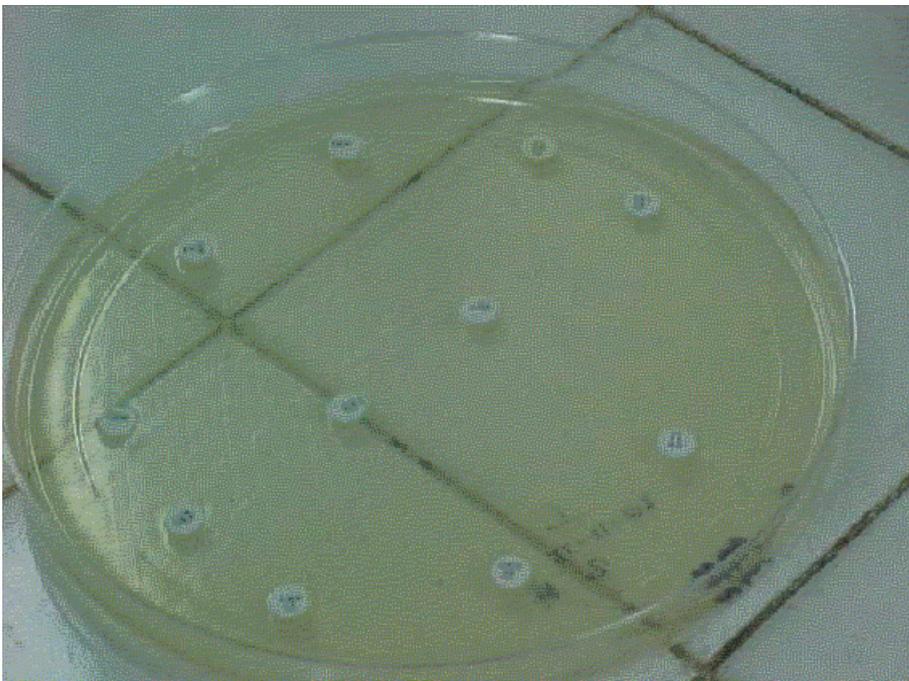
Disco del  
antibiótico  
sobre la  
superficie  
del Agar  
Mueller  
Hinton  
inoculado.

FOTOGRAFIA 6:



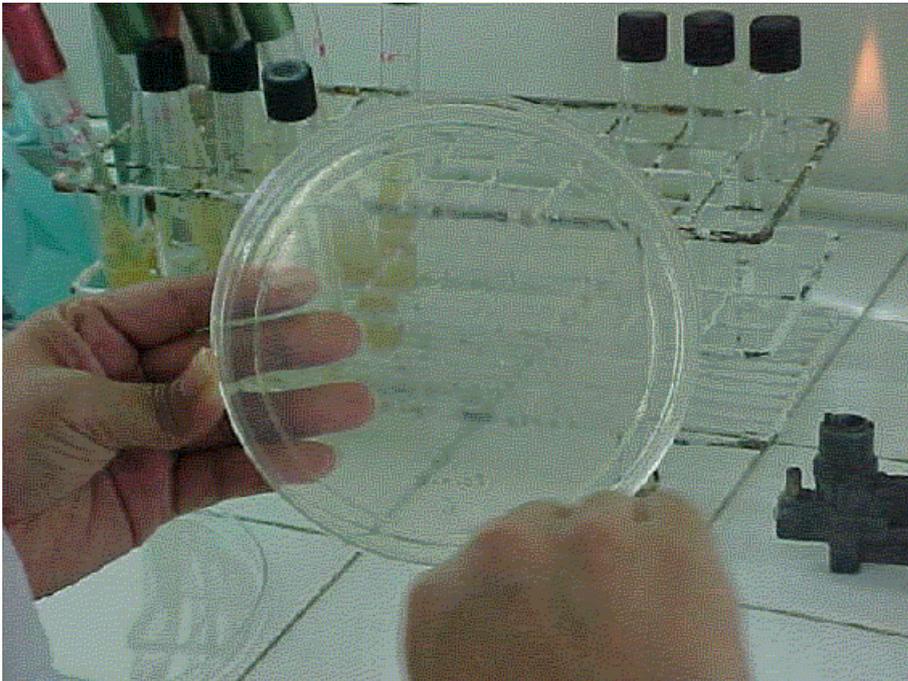
Colocando disco de antibiótico sobre la superficie del agar Mueller Hinton con pinza estéril

FOTOGRAFIA 7:



Muestra la distribución de los diferentes antibióticos utilizados en placas de 150 mm. para dicho estudio

FOTOGRAFIA 8:



Parte del equipo de laboratorio utilizado en dicho trabajo de tesis

FOTOGRAFIA 9:



Vista de los diferentes halos de inhibición en la placa de Mueller Hinton

FOTOGRAFIA 10:



Medidas de los diámetros de las zonas de inhibición para obtener resultados de las muestras procesadas

FOTOGRAFIA 11:



Medidas de los diámetros de las zonas de inhibición para obtener los resultados de la cepa control

FOTOGRAFIA 12: