

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA MULTIRRESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS  
DE *Salmonella sp* AISLADA A PARTIR DE MUESTRAS DE CHORIZOS  
COMERCIALIZADOS EN MERCADOS DE SANTA TECLA.

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:**

SANDRA LISSETH MELARA CRUZ.

BRISEIDA GUADALUPE SALAZAR ARTIGA.

**PARA OPTAR AL GRADO DE:**

LICENCIATURA DE QUIMICA Y FARMACIA.

FEBRERO, 2012

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.**

**RECTOR**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA GENERAL**

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

LIC. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

**COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACION.**

**COORDINADORA GENERAL**

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

**ASESORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA**

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

**ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: CALIDAD AMBIENTAL**

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velázquez

**DOCENTE DIRECTORA**

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos.

## **AGRADECIMIENTOS.**

En primer lugar queremos agradecer a Dios por guiarnos en este largo camino y brindarnos el espíritu de fortaleza para culminar con éxito nuestra carrera.

A nuestros familiares quienes a lo largo de nuestras vidas nos han apoyado y motivado a nuestra formación académica.

A nuestra asesora de tesis Msc. Evelyn de Ramos por orientarnos a lo largo de la realización de nuestro proyecto, por su paciencia y dedicación.

Al personal que labora en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por su colaboración y apoyo

A las personas que forman parte del equipo de analistas de Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LECC), por permitirnos hacer uso de su equipo e instalaciones, para realizar la etapa final de nuestros análisis.

A nuestros catedráticos que nos orientaron desde el inicio hasta el final de nuestra carrera con sus consejos profesionales y personales.

A nuestros amigos, por escucharnos, apoyarnos incondicionalmente y por cada una de las experiencias compartidas.

A nuestros compañeros, de quienes también aprendimos y compartimos gran cantidad de experiencias.

## **DEDICATORIAS.**

A Dios por darme la fortaleza necesaria para continuar en los momentos en los que creí ya no tener fuerzas para seguir adelante con mi carrera.

A mi madrecita querida, quien a no pudo verme culminar mi carrera, ya que partió al cielo cuando cursaba tercer año y quien fue mi mayor inspiración y mejor amiga aquí en la tierra.

A mi papá, por demostrarme y enseñarme a ser una persona fuerte.

A mis tíos Elmer, Elisa y Tomasa, por estar siempre dispuestos a ayudarme y brindarme su apoyo incondicional.

A mis hermanos Carlos y Miguel, quienes me han acompañado siempre con su comprensión a prueba de todo.

A mi hermanita Alisson, por sus sonrisas, por darme una nueva razón para seguir adelante y vencer cualquier obstáculo.

A mis primas Ana, Sonia y Morena, por escucharme, soportarme y convertirse en mis mejores amigas.

A Beatriz y Leticia, por haberme brindado su apoyo en los momentos más difíciles de mi vida.

Sandra Lisseth Melara Cruz

## **DEDICATORIA**

A Dios, por brindarme sabiduría para guiarme en el camino correcto y la fortaleza para alcanzar mis sueños y metas.

A mis Padres, Silvia de Salazar y Alcides Salazar, por la paciencia de esperar esta meta en mi vida, por su apoyo incondicional, su esfuerzo personal, y sabios consejos para culminar mi carrera; por ayudarme a no tropezar y por esforzarse en comprender cuando, a pesar de todo, me empeño en pisar fuera de sus huellas.

A mis sobrinos, Héctor y Camila; por ser mi fuente de motivación y por el amor inmenso y absoluto que día a día me regalan.

A mis hermanos, por su inmensa tolerancia y apoyo incondicional en todos los momentos vividos.

A mis amigos y compañeros ya que hicieron mis años de universidad agradables e inolvidables

A Héctor, que por su paciencia, interés y comprensión me animo a la elaboración de este trabajo, por creer en mí y por quitarme la razón cuando no la tengo, que no es tarea fácil.

Briseida Guadalupe Salazar Artiga

## INDICE.

	Pág.
Resumen	
I.INTRODUCCION	xxiii
II.OBJETIVOS	25
III. MARCO TEORICO	26
3.1 Generalidades	26
3.2Taxonomía	26
3.2.1 Grupo <b><i>Salmonella-arizonae</i></b>	29
3.2.1.1 Clasificación	29
3.3 Morfología e identificación	30
3.3.1 Estructura antigénica	30
3.4 Epidemiología	31
3.4.1 Portadores	33
3.4.2 Fuentes de infección	33
3.5 Patogenia	34

	Pág.
3.5.1 Virulencia.	35
3.5.2 Infecciones por <b>Salmonella sp.</b>	36
3.5.3 Intoxicación alimentaria por <b>Salmonella sp.</b>	38
3.5.4 Profilaxis	39
3.5.5 Prevención y Control.	40
3.5.6 Contaminación de la carne de animales de destace.	41
3.6 Tratamiento.	42
3.7 Antibióticos.	43
3.7.1 Resistencia antimicrobiana a antibióticos.	44
3.7.1.1 Definición de antimicrobiano	45
3.7.1.2 Bacterias resistentes a antimicrobianos	45
3.7.1.3 Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos	47
3.7.2.4 Resistencia Cruzada	49
3.7.2.5 Origen de la resistencia a los fármacos	50
3.7.2 Limitación de la resistencia a los fármacos	51



	Pág.
3.7.3 Implicaciones clínicas de la resistencia a los fármacos	52
3.8 Pruebas para determinar la resistencia antimicrobiana.	53
3.8.1 Prueba de sensibilidad por difusión con discos	
(fundamento)	53
3.8.2 Limitaciones.	55
3.9 Galerías API	55
IV. DISEÑO METODOLOGICO	57
4.1 Tipo de estudio	57
4.2 Investigación bibliográfica	57
4.3 Investigación de campo	58
4.3.1 Hipótesis	58
4.3.1.1 Hipótesis nula.	58
4.3.1.2 Hipótesis alternativa	58
4.3.2 Variables	58
4.4 Análisis de datos.	59

	Pág.
4.4.1 Universo.	59
4.4.2 Muestra	59
4.5 Parte experimental	60
<b>4.5.1</b> Enriquecimiento	60
4.5.2 Aislamiento de <b><i>Salmonella sp.</i></b>	61
4.5.3 Confirmación bioquímica	62
4.5.4 Pruebas bioquímicas con API 20E	62
4.5.5 Prueba de Sensibilidad por el Método de Difusión en Disco (Kirby-Bauer), para <b><i>Salmonella sp</i></b> aislada de las muestras	64
4.5.5.1 Preparación del estándar 0.5 MacFarland	64
4.5.5.2 Preparación del inóculo	64
4.5.5.3 Inoculación de las placas	65
4.5.5.4 Aplicación de discos	65
4.5.5.5 Incubación	66

	Pág.
4.5.5.6 Lectura de las placas e interpretación de resultados.	66
V. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.	68
VI. CONCLUSIONES	87
VII. RECOMENDACIONES	89
BIBLIOGRAFIA	91
GLOSARIO	96
ANEXOS	98

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°	N° Pág.
1. Hoja de cotejo	100
2. Materiales y equipo de laboratorio.	103
3. Aislamiento de <b><i>Salmonella sp</i></b>	107
4. Método bacteriológico para aislamiento de <b><i>Salmonella sp.</i></b>	110
5. Morfología típica de colonias de <b><i>Salmonella sp</i></b> en medios selectivos y purificación	112
6. Reacciones bioquímicas de <b><i>Salmonella sp.</i></b>	114
7. Identificación de cultivos aislados mediante galerías API 20E	115
8. Interpretación de resultados de pruebas API	117
9. Reacciones positivas- negativas de la galería API 20 E	119
10. Determinación de resistencia antimicrobiana por medio del Método de Difusión en discos	120
11. Cuadro de interpretación de resultados del tamaño	

	N° Pág.
del halo, basado en resultados obtenidos usando agar Mueller Hinton	121
12.Preparación del estándar McFarland 0.5	123
13.Certificado de cepa ATCC	125
14.Resultados del proceso de aislamiento e identificación de <b><i>Salmonella sp.</i></b>	126
15.Hojas de perfiles de identificación para muestras presuntivas de Salmonella sp analizadas por API 20E	134
16.Perfiles de identificación API 20 E de muestras analizadas	136
17.Resultados de muestras analizadas por método de Kirby-Bauer	137

## INDICE DE CUADROS.

CUADRO N°	N° Pág.
1. Clasificación taxonómica de <b><i>Salmonella</i></b> .	27
2. Fármacos de elección para patógenos	43
3. Porcentaje de Chorizo que es elaborado en el mismo lugar de venta.	68
4. Porcentaje de las condiciones necesarias que los locales poseen para la elaboración de chorizos	70
5. Porcentaje de personal que utiliza la vestimenta necesaria para la elaboración del producto	71
6. Porcentaje de Material que se encuentra en buen estado y limpio para la elaboración de chorizos	72
7. Porcentaje de elaboración de otro tipo de producto en máquina embutidora	74
8. Porcentaje de producto que es almacenado en las condiciones adecuadas	74

	N° Pág.
9. Porcentaje de Producto que se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta y de elaboración.	76
10. Porcentaje de maquina embutidora que se limpian o Desinfectan	77
11. Resumen de resultados del Análisis de aislamiento e Identificación de <b>Salmonella sp</b> a partir de muestras de chorizo.	80
12. Resultados de Bacterias Identificadas por API 20 E.	81
13. Porcentaje de muestras con presencia de <b>Salmonella sp.</b>	82
14. Cuadro Interpretativo del halo obtenido, basado en Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility disk tests, CLSI (formerly NCCLS)	83
15. Valores promedio de los resultados de diámetro (mm) obtenidos en la prueba de difusión en discos (Kirby Bauer.	83
16. Porcentaje de resistencia antimicrobiana presentada por	

	N° Pág.
<b><i>Salmonella sp.</i></b>	85
17. Clasificación de los perfiles de resistencias presentados	
por la cepa control (ATCC)	86



## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	N° Pág.
1. Grafico de Porcentaje de Chorizo que es elaborado en el mismo lugar de venta.	69
2. Grafico de porcentaje de las condiciones necesarias que los locales poseen para la elaboración de chorizos	70
3. Grafico de porcentaje de personal que utiliza la vestimenta necesaria para la elaboración del producto	71
4. Grafico de porcentaje de Material que se encuentra en buen limpio para la elaboración de chorizos	73
5. Grafico del porcentaje de elaboración de otro tipo de producto en máquina embutidora.	74
6. Grafico de porcentaje de producto que es almacenado en las condiciones adecuadas.	75
7. Grafico de porcentaje de producto que se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta y de elaboración.	76
8. Grafico de Porcentaje maquina embutidora que se limpian o desinfectan	77
9. Grafico de las muestras que poseen presencia de <b><i>Salmonella sp.</i></b>	82

	N° Pág.
10. Valores promedio de los resultados de diámetro (mm) obtenidos en la prueba de difusión en discos (Kirby Bauer)	84
11. Grafico de las muestras de chorizo con <b><i>Salmonella sp</i></b> que presentan resistencia antimicrobiana	85

## ABREVIATURAS

- **CO<sub>2</sub>**: Dióxido de Carbono
- **EMB**: Agar eosina y azul de metileno
- **H<sub>2</sub>S**: Sulfuro de Hidrogeno, Acido Sulhídrico.
- **PABA**: Acido para-aminobenzoico
- **PBP**: Principal proteína bioactiva
- **RNA**: Ácido ribonucleico
- **TMP-SMZ**: Trimetropin-Sulfametoxazol.
- **UFC**: Unidad formadora de Colonia

## RESUMEN.

La presente investigación pretende determinar la multiresistencia de ***Salmonella sp.*** ante antibióticos seleccionados mediante la técnica de Kirby Bauer, con el propósito de conocer si las condiciones ambientales, químicas y físicas inciden en el crecimiento de la bacteria de manera tal que varían su susceptibilidad ante dichos antibióticos.

Para ello se recolectaron 30 muestras de chorizo derivadas de ganado porcino y bovino, las cuales se analizaron en el laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones y Desarrollo para la Salud, de la Universidad de El Salvador donde se siguió una técnica microbiológica para aislar ***Salmonella sp.***

Las muestras fueron obtenidas de dos mercados ubicados en la ciudad de Santa Tecla, Departamento de La Libertad. Se evaluó mediante hoja de cotejo las condiciones higiénicas a las que estaban sometidas dichas muestras.

En el proceso de aislamiento de ***Salmonella sp.*** mediante la técnica microbiológica e identificación por galerías API, de las 30 muestras ensayadas se identificaron 4 muestras con presencia de la bacteria lo cual representa un 13.33% de incidencia de ***Salmonella sp.***

Una vez identificadas las cepas se les realizó un antibiograma por el método de Kirby Bauer para determinar susceptibilidad o resistencia a los siguientes

antibióticos: Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Ampicilina y Trimetropin-Sulfametoxazol.

Los resultados de los cultivos de cepas aisladas demuestran sensibilidad a Ciprofloxacina, Cloranfenicol, y Ceftriaxona; y resistencia a Ampicilina; por el contrario presentaron respuestas diferentes (sensible, intermedio y resistente) ante Trimetropin-Sulfametoxazol.

Con el propósito de comparar los resultados obtenidos de los cultivos de cepas aisladas se realizó el método de Kirby Bauer ensayando una cepa ATCC, cuyos resultados determinan que la cepa ATCC presentan mayor susceptibilidad ante los antibióticos Ciprofloxacina, Cloranfenicol y Ceftriaxona; a la vez dicha cepa ATCC presenta menor resistencia a Ampicilina en comparación con los resultados obtenidos por los cultivos de cepas aisladas

Los resultados de la cepa ATCC ensayada con el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol presentan susceptibilidad, lo cual difiere de los resultados de los cultivos de las cepas aisladas para este antibiótico.

Ante estos resultados se concluye que los chorizos derivados de ganado porcino y bovino que se muestrearon para esta investigación, no cumplen con la medida de higiene alimentaria necesaria para la elaboración y distribución, por lo que es preciso realizar estudios orientados a la investigación de la calidad de los chorizos comercializados en otros lugares del país, ya que en la etapa de

identificación de cultivos se encontraron microorganismos gram negativos diferentes a ***Salmonella sp.***

## I. INTRODUCCION

El chorizo es un embutido producido de carnes de animales como vacas y cerdos que son principales portadores de el microorganismo ***Salmonella sp***, la cual es un agente patógeno responsable de enfermedades diarreicas y gastroenteritis. De acuerdo al Ministerio de Salud pública y Asistencia Social entre las fechas comprendidas del 3 de enero al 15 de abril del 2010, se atendieron un total de 69,139 caso de diarrea y gastroenteritis, siendo la mayor causa de casos clínicos en comparación con otros tipos de enfermedades. (26)

Dado que el chorizo es uno de los productos más consumidos en la población debido a su valor económico, se aisló el microorganismo ***Salmonella sp*** cuyas muestras fueron obtenidas del mercado Central y mercado Dueñas, ambos de Santa Tecla, a los cuales se les realizó un set de pruebas de identificación y posteriormente se estudió la resistencia antimicrobiana utilizando la técnica de difusión de discos, y con el propósito de comparar los resultados obtenidos de los cultivos de cepas aisladas se realizó el método de Kirby Bauer ensayando una cepa ATCC

En el proceso de recolección de muestras se empleó el método de observación, mediante una hoja de cotejo para evaluar las condiciones higiénicas de cada uno de los locales.

La resistencia antimicrobiana es un problema sanitario que presenta una amenaza a la salud de la población, y debido a que no existe un antecedente en

el país acerca de este tema específico, este estudio se enfocó en determinar la multiresistencia antimicrobiana que presenta el agente patógeno ***Salmonella* sp,**

El análisis se efectuó en las instalaciones del laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo para la Salud de la Universidad de El Salvador.

Los resultados de los cultivos de cepas aisladas demuestran sensibilidad a Ciprofloxacina, Cloranfenicol, y Ceftriaxona; y resistencia a Ampicilina; por el contrario presentaron respuestas diferentes (sensible, intermedio y resistente) ante Trimetropin-Sulfametoxazol.

Los resultados de la cepa ATCC ensayada con el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol presentan susceptibilidad, lo cual difiere de los resultados de los cultivos de las cepas aisladas para este antibiótico.



## II. OBJETIVOS.

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

2.2.1 Determinar la multirresistencia antimicrobiana de *Salmonella sp* aislada a partir de muestras de chorizo comercializados en mercados de Santa Tecla.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Investigar sobre las condiciones higiénicas en la elaboración de estos productos en el área de venta.

2.2.2 Aislar el microorganismo *Salmonella sp* a partir de las muestras de chorizo mediante técnica microbiológica

2.2.3 Evidenciar la resistencia microbiana que existe entre los antibióticos seleccionados ante *Salmonella sp* cepa ATCC (control).

2.2.4 Comprobar la resistencia microbiana de la *Salmonella sp* aislada a partir de muestras de chorizo ante los antibióticos de prueba; empleando la técnica de Kirby- Bauer.

2.2.5 Realizar una comparación entre los resultados obtenido de la multirresistencia de la cepa control y la muestra aislada.

### III. MARCO TEORICO.

#### 3.1 Generalidades.

**Salmonella sp.** Es un género de bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gram-negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa. Todas las bacterias pertenecientes al género **Salmonella** son patógenas para el hombre y los animales en mayor o menor grado. <sup>(11)</sup>

#### 3.2 Taxonomía

La taxonomía del genero **Salmonella** ha sido objeto de amplios debates. Inicialmente se consideraba que estaba formado por una sola especie dividida en serotipos siguiendo el esquema establecido por Kauffmann- White y basado en los diferentes tipos de antígenos flagelares y somáticos.

El antígeno flagelar se representa por la letra H (flagelar: del alemán hauch, “por el halo producido en un medio de cultivo a consecuencia del movimiento”) y el antígeno somático conocido como antígeno O (somático: del alemán ohne hauch, que significa: sin movimiento).

El género **Salmonella** se consideraba integrado por una sola especie denominada **Salmonella entérica** que se subdividía en siete subespecies a

partir de los resultados obtenidos mediante estudios para establecer sus perfiles bioquímicos y confirmados por técnicas de hibridación del ADN/ADN y métodos serológicos. En este sentido en el Subgrupo I, por ejemplo, se integraban la mayoría de cepas con capacidad patógena para los animales. Los Subgrupos IIIa y IIIb incluían las cepas consideradas como ***Salmonella arizonae***.

En los últimos años se ha propuesto una nueva clasificación que incluye más de 2,375 serovares de ***Salmonella*** y se considera que el género está integrado por dos especies: ***Salmonella bongori*** y ***Salmonella entérica***.

Sin embargo, algunos autores indican que ***Salmonella typhi***, actualmente clasificada como un serotipo o serovar de ***Salmonella entérica*** subespecie ***entérica***, debería ser considerada como especie con entidad propia, dada su importancia clínica ya que se describe como el agente etiológico de la fiebre tifoidea en humanos. (13)

Cuadro N°. 1 Clasificación taxonómica de ***Salmonella*** (9)

SUBGRUPO	SEROGRUPOS
Subgrupo 1	<b><i>S. typhi, S. choleraesuis, S. paratyphi, S. gallinarum, S. pullorum</i></b>
Subgrupo 2	<b><i>S. salamae</i></b>
Subgrupo 3	<b><i>S. arizonae</i></b>
Subgrupo 3b	<b><i>S. diarizonae</i></b>
Subgrupo 4	<b><i>S. houtenae</i></b>
Subgrupo 5	<b><i>S. bongori</i></b>
Subgrupo 6	<b><i>S. choleraesius</i></b> subespecie <b><i>indica</i></b>

A partir de 1º julio de 1983. Los CDC (Centro de Control de Enfermedades) cambiaron el método para informar los resultados de los serotipos, de modo que todos los microorganismos identificados con **Salmonella** se informan por género y serotipo, omitiendo la referencia a especies. (9)

En la práctica diaria, los aislamientos desconocidos de muestras clínicas que son bioquímicamente sugestivos de especies de **Salmonella** se confirman usando antisueros policlonales que contienen anticuerpos contra todos los subgrupos mayores. Los subcultivos de aislamientos confirmados son transmitidos a los laboratorios de salud pública donde se hace las designaciones de serotipos. (22)

Con importancia clínico epidemiológica, las más de 2000 serovariedades de **Salmonella** pueden agruparse en tres divisiones ecológicas (spp. son subespecies): (11)

1. **Salmonella spp.:** adaptadas a vivir en el ser humano, entre ellas, **Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A, B y C;**
2. **Salmonella spp:** adaptadas a hospederos no humanos, que circunstancialmente pueden producir infección en el hombre, entre ellas, **Salmonella dublin y Salmonella choleraesuis.**

3. ***Salmonella spp***: Sin adaptación específica de hospedero, que incluye a unas 1800 serovariedades de amplia distribución en la naturaleza, las cuales causan la mayoría de las salmonelosis en el mundo. (9)

### 3.2.1 Grupo ***Salmonella-arizonae***.

Con frecuencia, la ***Salmonella*** es patógena para humanos o animales cuando se adquieren por vía oral. Se transmiten a los humanos a partir de animales y productos de éstos, y causan enteritis, infección sistémica y fiebre entérica. (7)

#### 3.2.1.1 Clasificación

La clasificación del grupo ***Salmonella-arizonae*** es compleja debido a que los microorganismos constituyen una continuidad más que especies definidas. Un sistema de clasificación consideró tres especies primarias: ***Salmonella typhi*** (un serotipo), ***Salmonella choleraesuis*** (un serotipo) y ***Salmonella enteritidis*** (más de 1 500 serotipos). La serotipificación se basa en la reactividad de los antígenos O y de los antígenos bifásicos H. Con base en estudios de hibridación del DNA, la clasificación taxonómica formal incluye el género ***Salmonella*** con siete subgrupos, cada uno con sus propias características e historia fenotípica. Casi todas (> 99%) las subespecies de ***Salmonella*** causantes de enfermedad en humanos se encuentran en el subgrupo 1 y pueden aislarse de los animales de sangre caliente; los otros grupos predominantemente se aíslan de animales de sangre fría y del ambiente. En la práctica no se emplean nombres formales para las especies y las subespecies.

La nomenclatura simplificada considera los nombres de los serotipos como nombres de especies. Los laboratorios típicamente informan un serogrupo específico, por ejemplo, serogrupo ***Salmonella* CI** (un serogrupo puede tener muchos serotipos). Los informes de los laboratorios de referencia que serotifican a los aislamientos incluyen el nombre del género: por ejemplo, ***Salmonella*** y el serotipo: por ejemplo, ***typhimurium***, que se convierte en ***Salmonella typhimurium*** como si fuera la designación de género y especie. (22)

### 3.3 Morfología e identificación.

Las especies de ***Salmonella*** varían en longitud. La mayor parte de las especies excepto ***Salmonella pullorum-gallinarum*** están dotadas de motilidad mediante flagelos peritricos. ***Salmonella*** crece rápidamente sobre medios simples, pero casi nunca fermentan lactosa o sacarosa. Forma ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Habitualmente producen H<sub>2</sub>S. Sobrevive en agua congelada durante periodos prolongados. ***Salmonella*** es resistente a ciertas sustancias químicas (por ejemplo, verde brillante, tetrionato de sodio, desoxicolato sódico) que inhiben otras bacterias entéricas. (22)

#### 3.3.1 Estructura antigénica.

Las especies de ***Salmonella*** se detectan inicialmente por sus características bioquímicas, pero los grupos y las especies se identifican mediante análisis antigénicos. Igual que otras enterobacteriáceas, la ***Salmonella*** posee varios antígenos O (de un total de más de 60) y diferentes antígenos H en una o

ambas de las fases. Algunas especies de **Salmonella** poseen antígenos capsulares (K), conocidos como Vi, capaces de interferir con la aglutinación por antisuero O y vinculados con la invasividad. Las pruebas de aglutinación con antisueros absorbidos, para diferentes antígenos O y H son la base de la clasificación serológica de las salmonellas. (22)

### 3.4 Epidemiología.

Desde 1885, año en que Daniel Salmon (médico veterinario) descubriera la primera cepa de **Salmonella**, se han reconocido 2.213 serotipos, y aunque quedan algunos en identificación, un gran número de serotipos han participado en las infecciones humanas durante largo tiempo, sin embargo, en los últimos años, **Salmonella enteritidis** (SE) ha experimentado una notable expansión a nivel mundial, produciendo un alarmante aumento en la incidencia y severidad de los casos.

En Chile, **Salmonella entérica** surgió como una enfermedad emergente en la década del noventa, las tasas de notificaciones aumentaron de 0,35 casos / 100, 00 habitantes en periodos pre epidémico a 3,41 y 3,04 casos /100,000 habitantes en 1994 y 1995. (31)

La fiebre tifoidea es otra de las enfermedades que pueden ser ocasionadas por bacterias del género **Salmonella**. Habitualmente esta enfermedad está provocada por cepas de **Salmonella entérica** susp. **entérica** serotipo **typhi**

(***Salmonella typhi***). El único reservorio de la ***Salmonella typhi*** es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra.

La fiebre paratifoidea tiene ciertas similitudes con la fiebre tifoidea, pero tiene un curso más benigno. Esta enfermedad está habitualmente ocasionada por los serotipos paratyphi A, paratyphi B y paratyphi C. Las infecciones por ***Salmonella paratyphi A*** son comunes en África, la paratifoidea B es más frecuente en Europa que se presenta como una gastroenteritis severa y la paratifoidea C es una infección rara, generalmente vista en el Extremo Oriente que se presenta como una septicemia. (9)

Las heces de las personas con enfermedad subclínica no sospechada o de los portadores constituyen la fuente más importante de contaminación y no los casos clínicos declarados que se aíslan con prontitud por ejemplo, cuando los portadores trabajan en el manejo de alimentos y "expulsan" microorganismos. Muchos animales, entre ellos ganado bovino, roedores y aves, presentan infección natural con varios tipos de ***Salmonella*** y poseen bacterias en sus tejidos (carne), excreta o huevos. Se ha dado mucha publicidad a la elevada incidencia de ***Salmonella*** en los pollos disponibles en el comercio. El problema puede verse agravado por el amplio uso de alimento de animales que contienen antimicrobianos, lo cual favorece la proliferación de especies de ***Salmonella*** resistentes a los fármacos y su posible transmisión al ser humano.



### 3.4.1 Portadores

Después de las infecciones manifiesta o subclínica, algunas personas continúan albergando **Salmonella** en sus tejidos durante un tiempo variable (portadores convalecientes o portadores permanentes sanos). Un 3% de los supervivientes de tifoidea se convierten en portadores permanentes y albergan los microorganismos en vesícula biliar, vías biliares, o pocas veces, en el intestino o el aparato urinario. (8)

### 3.4.2 Fuentes de infección

Las fuentes de infección son alimentos y bebidas contaminadas con **Salmonella**.

Agua: La contaminación con heces frecuentemente produce epidemias explosivas.

Leche y otros productos lácteos (helado, queso, cremas). Contaminación con heces y pasteurización o manejo inapropiados. Algunos brotes pueden seguirse hasta la fuente de suministro.

Mariscos. Procedentes de aguas contaminadas.

Huevos secos o congelados. De aves infectadas o contaminadas durante su procesamiento.

Carnes y productos de carne. De animales infectados (aves) o contaminación con heces por roedores o humanos.

Drogas "recreativas". Marihuana y otras drogas.

Colorantes de animales. Colorantes (por ejemplo, carmín), empleados en fármacos, alimentos y cosméticos.

Mascotas domésticas. Tortugas, perros, gatos, etcétera. (8)

### 3.5 Patogenia

La ***Salmonella*** es una bacteria invasora y enterotoxigénica. La infección se localiza principalmente en el íleo terminal y en el intestino grueso. La ***Salmonella typhi*** y ***paratyphi*** normalmente invade la circulación, mientras que las otras especies están limitadas a la mucosa intestinal.

Su patogenia comienza con la ingestión del inóculo que puede variar a  $10^3$  a  $10^6$  células, si el inóculo es suficientemente grande superará la barrera gástrica que supone el pH ácido.

La ***Salmonella*** se transmite en el ser humano, por vía fecal-oral, mediante alimentos y agua contaminada. La bacteria atraviesa el tubo digestivo, incluido el medio ácido del estómago, hasta colonizar el intestino delgado.

En el caso de la fiebre entérica (tifoidea), enfermedad sistémica, la ***Salmonella*** cruza la barrera intestinal, donde la fagocitosis por los macrófagos favorecen la diseminación de las bacterias a través del sistema retículo-endotelial.

En el caso de la salmonelosis no tifoidea, la bacteria suele provocar una infección localizada, con afluencia de neutrófilos al intestino, y una gastroenteritis de curación espontánea. (32)

### 3.5.1 Virulencia

Ha pasado más de un siglo desde que ***Salmonella typhi*** fue aislada y reconocida como el agente causal de la fiebre tifoidea en humanos y, sin embargo, los mecanismos de virulencia de esta bacteria no han sido entendido de todo aún. Algunas de las manifestaciones son producidas por liberación de una endotoxina 6, la cual tiene diversos efectos biológicos, incluyendo la inducción de la fiebre. El antígeno Vi parece no actuar como un prerrequisito de invasión a las células epiteliales, sino más bien como un factor protector de los antígenos O contra la acción de anticuerpos, ya que estos parecen facilitar la fagocitosis

En varias especies de ***Salmonella*** se ha demostrado que existe un plásmido necesario para causar la infección más allá de las placas de Peyer del intestino.

(16)

### 3.5.2 Infecciones por *Salmonella* sp.

Casi siempre se adquieren por ingestión de los microbios, generalmente con agua, leche o alimentos contaminados. Eventualmente ocurren infecciones dobles, simultáneas con más de un tipo de *Salmonella*. Hay dos tipos de enfermedad, una gastroenteritis aguda caracterizada por vomito y diarrea, y en la cual una pequeña parte de los pacientes se hacen septicémicos, encontrándose las bacterias en sangre en relativa abundancia, la otra es la fiebre tifoidea o fiebre continua en la cual la bacteriemia ocurre en la etapa inicial y los síntomas son más generales. *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A. generalmente *Salmonella paratyphi* B., eventualmente *Salmonella paratyphi* C. y formas similares, y excepcionalmente cualquier otro tipo de *Salmonella*, son causantes de la fiebre continua. Por otra parte la gastroenteritis aguda rara vez o nunca es provocada por *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A. y una pequeña parte de los casos con *Salmonella paratyphi* B son de este tipo, pero la inmensa mayoría de gastroenteritis se debe a infección con los muchos otros serotipos de estas bacterias, principalmente *Salmonella tiphymurium*, *Salmonella enteriditis*, *Salmonella choleraesuis*, etc. (9)

Las especies de *Salmonella* producen tres tipos principales de enfermedad en los humanos, pero son frecuentes las variantes mixtas. (8)

- Fiebres entéricas (fiebre tifoidea)

Sólo unos cuantos tipos de **Salmonella** producen este síndrome, entre ellos la **Salmonella typhi** (fiebre tifoidea) es el más importante. Las bacterias de **Salmonella** ingeridas alcanzan el intestino delgado, desde el cual penetran a los linfáticos y luego al torrente sanguíneo. Se transportan por la sangre a muchos órganos, incluso el intestino. Los microorganismos se multiplican en el tejido linfoide intestinal y se excretan en las heces.

Luego de un periodo de incubación de 10 a 14 días, se presentan fiebre, malestar, cefalea, estreñimiento, bradicardia y mialgia. La fiebre se eleva hasta una meseta máxima, y el bazo y el hígado se hipertrofian. Habitualmente se observan sobre la piel del abdomen y del tórax manchas de color rosáceo, fugaces en pocos casos. La cifra de leucocitos es normal o está disminuida. Antes de los antibióticos, las principales complicaciones de la fiebre entérica eran hemorragia y perforación intestinal, y la tasa de mortalidad de 10 a 15%. El tratamiento con antibióticos redujo la tasa de mortalidad a menos de 1 %.

Las principales lesiones son hiperplasia y necrosis del tejido linfoide (por ejemplo, placas de Peyer), hepatitis, necrosis focal del hígado e inflamación de la vesícula biliar, periostio, pulmones y otros órganos. (8)

- Bacteriemia con lesiones focales

Se vincula comúnmente con la **Salmonella choleraesuis**, pero también puede ser causada por cualquier serotipo. Después de la ingestión por vía oral hay invasión inicial del torrente sanguíneo (con posibles lesiones focales en

pulmones, huesos, meninges), pero con frecuencia no hay manifestaciones intestinales. El hemocultivo es positivo. (8)

- Enterocolitis (antes llamada "gastroenteritis ")

Es la manifestación más común de la infección por **Salmonella**, especialmente la causada **Salmonella typhimurium** pero cualquiera de los 1,500 a 2,000 tipos de **Salmonella** pueden causar enterocolitis. En un tiempo de 8 a 48 horas después de la ingestión de la bacteria aparecen náuseas, cefalea, vómitos y diarrea profusa, con pocos leucocitos en las heces; es común la fiebre de poca intensidad, pero por lo general los síntomas desaparecen en 2 a 3 días. (8)

Se observan lesiones inflamatorias en los intestinos grueso y delgado. La bacteriemia es rara (2 a 47c) excepto en personas inmunodeficientes. En general, el hemocultivo es negativo, pero los cultivos de heces son positivos para salmonellas y a veces permanecen positivos durante varias semanas después de la recuperación clínica. (8)

### 3.5.3 Intoxicación alimentaria por **Salmonella sp.**

En las infecciones por **Salmonella sp.**, suele intervenir una de las tres siguientes especies: **Salmonella typhimurium** y sus variedades, **Salmonella enteritidis** y **Salmonella choleraesuis**, **Salmonella typhimurium**; este último es microorganismo más frecuentemente observado, mientras que **Salmonella choleraesuis** raramente se halla presente.

La ingestión de alimentos que contiene gran número de estos gérmenes suele originar síntomas típicos de una intoxicación alimentaria. No se ha comprobado la producción de sustancias enterotóxicas por estas bacterias, y es probable que tenga lugar una infección, según señalan el periodo de incubación relativamente más prolongado y el descubrimiento de estas bacterias en las heces. Casi todos los alimentos pueden transportar estos microorganismos, aunque predominan en las carnes y otros alimentos proteínicos. <sup>(9)</sup>

#### **3.5.4 Profilaxis**

Por lo complejo que ha sido la epidemiología de las salmonelosis, resulta difícil erradicarlas. Hasta ahora han fracasado todos los intentos para producir animales libres de salmonelosis. Las medidas deberían orientarse a la reducción de las bacterias del ambiente, por lo tanto, de las frecuencias de las infecciones. Debería existir una estrecha relación entre médicos y veterinarios, ya que la salmonelosis humanas y animales están relacionadas entre si desde el punto de vista epidemiológico. Lo primero que hay que combatir es la contaminación de los alimentos destinados a la alimentación de diferentes animales. Hay que realizar análisis de harinas en muestras tomadas al azar, bien sea producida en el país o en el exterior. A nivel de matadero, el veterinario debe hacer inspección en forma rutinaria a las carnes, ganglios u otras vísceras sospechosas y realizarle exámenes bacteriológicos. Hay que mantener vigilancia de la higiene en las operaciones de la matanza y de la

transformación ulterior y comercialización de los productos cárnicos. Tanto los veterinarios como los ayudantes, ganaderos y obreros deben permanecer libres de ***Salmonella sp***, manteniendo buena higiene y limpieza.

El hallazgo de salmonelosis trae como consecuencia el análisis del medio ambiente para descubrir la fuente de la infección o interrumpir la cadena de contagio, una vez identificados los portadores sanos de gérmenes. La leche es un vehículo importante de microorganismos patógenos por eso debe ser pasteurizada, igualmente sucede con los jugos que se expenden sin ningún control sanitario.

El veterinario debe mejorar las medias de lucha contra la salmonelosis en animales, así como su prevención para evitar que llegue a la población humana.

(28)

### **3.5.5 Prevención y Control**

Las infecciones por ***Salmonella sp*** pueden ser prevenidas principalmente por medio de programas de salud pública, que incluyan seguridad alimentaria, medidas de higiene personal. (24)

La contaminación puede darse en cualquier parte del proceso de producción de los alimentos, desde el establo hasta el propio consumo de los mismos, y por eso la prevención depende de la producción cuidadosa de los alimentos, el procesamiento y manejo de los productos crudos y la preparación final de estos.



Dentro de las medidas que deben ser evaluadas e implementadas se encuentran la cloración de las fuentes de agua utilizadas en los animales de destace, el saneamiento del destace y el procesamiento de carne para consumo humano, la irradiación de productos agrícolas y otros métodos para la reducción microbiana. (1)

### **3.5.6 Contaminación de la carne de animales de destace**

La contaminación de la carne de los animales de destace puede ocurrir en cualquier momento desde el establo donde se crían los animales hasta el momento en que se prepara y se sirve la carne a la mesa.

Al principio de la cadena de seguridad alimentaria se encuentra la alimentación de los animales de destace en el establo. Varios estudios han demostrado que en muchas ocasiones el alimento y el agua que se les da a estos animales se encuentran contaminados por *Salmonella sp*, además cuando no hay un sistema adecuado para el desecho del estiércol por estos animales en el establo, la contaminación puede convertirse en un círculo vicioso, ya que muchas veces se utiliza el mismo estiércol contaminado para fertilizar los campos que producen el alimento que va a ser ingerido por estos animales.

Como paso siguiente está el transporte de estos animales a las plantas procesadoras; este a veces puede ser un viaje largo donde los animales se encuentran aglutinados en pequeños espacios.

Los animales defecan en el mismo sitio donde viajan y tienen contacto con sus propias heces y la de los demás animales; cuando uno o más de estos animales es un portador crónico o se encuentra infectado esta puede ser una fuente de contaminación.

Debido a que generalmente no se observan síntomas de la enfermedad en estos animales, estos pasan las inspecciones de los veterinarios de las plantas procesadoras e ingresan a estas sin ninguna restricción. Pero durante el proceso de destace, material intestinal que contiene **Salmonella sp** puede contaminar la superficie de los cadáveres y posteriormente causar una contaminación extensa de la carne y sus productos. Los instrumentos utilizados para el destace también pueden causar contaminación cruzada. (10, 27, 21)

### 3.6 Tratamiento

Aunque las fiebres entéricas y las bacteriemias por lesión focal requieren tratamiento antimicrobiano, la mayor parte de los casos de enterocolitis no lo necesitan. El tratamiento antimicrobiano de la enteritis por **Salmonella** es importante en los neonatos. En la enterocolitis, la terapéutica antimicrobiana puede prolongar los síntomas clínicos y la excreción de la **Salmonella**. En la diarrea intensa es indispensable la reposición de líquidos y electrolitos. (8)

La terapéutica antimicrobiana de la infección invasora por **Salmonella** se lleva a cabo con ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, o una cefalosporina de tercera generación. La resistencia a múltiples fármacos transmitida genéticamente por

plásmidos entre las bacterias entéricas es un problema en las infecciones por **Salmonella**. Las pruebas de susceptibilidad constituyen un coadyuvante importante para seleccionar el antibiótico apropiado.

En la mayoría de los portadores, el microorganismo persiste en la vesícula biliar (particularmente si hay cálculos biliares) y en las vías biliares. Algunos portadores crónicos sólo se curan con ampicilina, pero en la mayor parte de los casos se debe combinar la colecistectomía con el tratamiento farmacológico. (8)

Cuadro N°. 2. Fármacos de elección para patógenos (11)

Agente etiológico sospechado o demostrado	Fármaco(s) de primera elección	Fármacos(s) alternativo(s)
<i>Klebsiella</i>	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima.	TMP-SMZ, aminoglucósido, imipenem, ciprofloxacina, ofloxacina, piperacilina, mezlocilina.
<i>Proteus mirabilis</i>	Ampicilina.	Un aminoglucósido, TMP-SMZ, ciprofloxacina, ofloxacina.
<b>Salmonella</b>	<b>Ceftriaxona, ciprofloxacina, ofloxacina.</b>	<b>TMP-SMZ, ampicilina, Cloramfenicol.</b>
<i>Serratia</i>	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima.	TMP-SMZ, aminoglucósidos, ciprofloxacina, ofloxacina, imipenem.
<i>Shigella</i>	Ciprofloxacina, ofloxacina.	Ampicilina, TMP-SMZ, ceftriaxona.

### 3.7 Antibióticos.

Idealmente una droga antimicrobiana debe ser mucho más tóxica para el organismo que está causando la infección que para las células del hospedero. Este es requisito para el tratamiento efectivo y seguro con quimioterapia de las infecciones causadas por microorganismos invasivos.

La toxicidad selectiva se obtiene por medio de la acumulación de niveles más altos de la droga en el microorganismo que en las células humanas, de la acción específica de la droga sobre estructuras celulares o procesos bioquímicos que solo ocurren en el microorganismo, o por medio de una acción de la droga sobre procesos bioquímicos que son más críticos para el microorganismo que para las células humanas.

El efecto de la droga antimicrobiana puede ser de tipo bacteriostático, cuando causa solamente inhibición del crecimiento del microorganismo y no la muerte del mismo, o puede ser tipo bactericida cuando el antimicrobiano si ocasiona la muerte del microorganismo. (20)

### **3.7.1 Resistencia antimicrobiana a antibióticos.**

Los niveles de resistencia están incrementando y se necesita más información para lograr comprender este problema y la amenaza que representa para la salud pública. Una forma de la cual se está obteniendo información es mediante el programa para monitorear cambios en la resistencia de las bacterias frente a las drogas antimicrobianas usadas en tratamientos en animales y humanos. Este programa es el Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana – Bacterias Entéricas. Este folleto explica el programa y la razón por la que es necesario. (15)

Son múltiples los factores que han contribuido al desarrollo de cepas bacterianas resistentes. Los médicos comparten responsabilidad en la

problemática al recetar antibióticos para infecciones que son virales o autolimitantes y que no necesitan tratamiento. También el uso de antibióticos modernos y de amplio espectro en situaciones en las que el uso de antibióticos más específicos tendría el mismo resultado, contribuye a la rápida aparición de cepas bacterianas resistentes. El uso diseminado en el campo de la agricultura y en animales ha saturado el medio ambiente con antibióticos y ha acelerado el problema. (18, 12,11)

#### **3.7.1.1 Definición de antimicrobiano**

Los antibióticos y otras drogas antimicrobianas permiten a los médicos tratar enfermedades bacterianas, como infecciones de oído o garganta irritada en humanos. Las drogas antimicrobianas también son usadas para tratar o prevenir enfermedades en animales y en otras áreas de la agricultura. Estos antimicrobianos trabajan matando a las bacterias o inhibiendo su crecimiento. (15)

#### **3.7.1.2 Bacterias resistentes a antimicrobianos.**

El uso de antibióticos puede eliminar a las bacterias susceptibles, dejando a un lado a las resistentes. Si esas bacterias resistentes se diseminan, causarán una infección que no responderá a los antibióticos comunes, o requerirá de dosis más elevadas o tratamientos por tiempo más prolongado. Como resultado, los seres vivos infectados por bacterias resistentes permanecerán más tiempo

enfermo que si hubieran sido infectados por las bacterias más fácilmente tratables con antibióticos. (15)

Desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos.

El incremento en la resistencia bacteriana a las drogas antimicrobianas es un fenómeno natural, resultado de la evolución. En cualquier población de organismos, incluyendo bacterias, aparecerán naturalmente algunos individuos con características propias y diferentes. En este caso, algunas bacterias pueden llegar a superar la acción de la droga antimicrobiana. El uso de antimicrobianos en humanos y animales a lo largo de los últimos 50 años ha acelerado inadvertidamente el proceso de desarrollo de resistencia antimicrobiana, en vista de que algunas bacterias han logrado sobrevivir estos tratamientos. Una vez que los factores determinantes aparecen en un ambiente, estos pueden diseminarse a otros microorganismos. (15)

Los animales de producción alimentaria son portadores de microorganismos que pueden enfermar a los seres humanos, y no necesariamente afectar a los animales. Ejemplos de esto son ***Salmonella***, ***Campylobacter***, y ***Escherichia coli H7:O157*** que son bacterias comúnmente encontradas en los intestinos de diversos animales. Estas bacterias pueden no causar una infección en animales, pero cualquiera de ellas es causa de enfermedades de origen alimentario en seres humanos. Estas bacterias pueden desarrollar resistencia si son expuestas a drogas antimicrobianas administradas al animal.

Posteriormente, estas bacterias pueden contaminar la carne en el momento del sacrificio, e infectar a individuos que la consuman, especialmente si no está bien cocida o si ya cocinada entra en contacto con carne cruda, en lo que se llama contaminación cruzada. (15)

Evidencia de la creciente resistencia a los tratamientos antimicrobianos en bacterias que pueden infectar a seres humanos ha establecido planteamientos importantes acerca del papel que juegan las drogas antimicrobianas en la aparición de bacterias resistentes a las drogas antimicrobianas. La relación entre la resistencia a los antimicrobianos en bacterias responsables de infecciones de origen alimentario en humanos y el uso de estas drogas antimicrobianas en animales de producción alimentaria ha sido reportada en numerosos estudios. Algunos patógenos, especialmente **Salmonella**, difícilmente se transfieren de persona a persona, se considera entonces, en los Estados Unidos que los alimentos son la principal y más probable fuente de exposición humana a estos patógenos. (15)

### **3.7.1.3 Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.**

Los microorganismos poseen muchos mecanismos diferentes para desarrollar la resistencia a los fármacos.

-Producen enzimas que destruyen al fármaco activo. Ejemplos: los **Staphylococcus** resistentes a la penicilina G producen una  $\beta$ -lactamasa que destruye el fármaco. Los bacilos gramnegativos producen otras ( $\beta$ -lactamasas.

Las bacterias gram-negativas resistentes a los aminoglucósidos (en virtud de un plásmido) producen enzimas adenilantes, fosforilantes y acetilantes que destruyen el fármaco. Las bacterias gramnegativas presentan resistencia al cloramfenicol si producen una cloramfenicol acetiltransferasa. (14)

-Cambian su permeabilidad al fármaco. Ejemplos: las tetraciclinas se acumulan en las bacterias susceptibles, pero no en las bacterias resistentes. La resistencia a la polimixina también se vincula con un cambio en la permeabilidad al fármaco. Los **Streptococcus** poseen una barrera natural de permeabilidad a los aminoglucósidos que puede superarse parcialmente al administrar simultáneamente un fármaco activo contra la pared celular, por ejemplo, una penicilina. La resistencia a la amikacina y a otros Aminoglucósidos a veces depende de la ausencia de permeabilidad a estos fármacos, aparentemente por un cambio en la membrana interna que reduce el transporte activo al interior de la célula. (8)

-Alteran estructuralmente el "blanco" del fármaco. Ejemplos: la resistencia cromosómica a los aminoglucósidos se acompaña de pérdida o alteración de una proteína específica en la sub-unidad 30S de los ribosomas bacterianos que sirven como enlace en los microorganismos susceptibles. Los microorganismos resistentes a la eritromicina muestran alteración del receptor sobre la subunidad SOS del ribosoma como consecuencia de la metilación del RNA ribosómico en 23S. La resistencia a algunas penicilinas y cefalosporinas puede ser función de



la pérdida o alteración de la PBP. La resistencia del ***Streptococcus pneumoniae*** y los ***Enterococcus*** a penicilina se debe a la alteración de la PBP. (8)

-Desarrollan una vía metabólica diferente que pasa por alto la reacción inhibida por el fármaco. Ejemplos: algunas bacterias resistentes a la sulfonamida no requieren del PABA extracelular y, al igual que las células de mamífero, pueden utilizar ácido fólico preformado. (8)

-Desarrollan una enzima diferente que todavía puede ejecutar su función metabólica pero es mucho menos afectada por el fármaco. Ejemplos: en bacterias resistentes al trimetoprim, la ácido dihidrofólico reductasa se inhibe con mucha menor eficiencia que en bacterias susceptibles al trimetoprim. (8)

#### **3.7.2.4 Resistencia Cruzada.**

Los microorganismos resistentes a un determinado fármaco también pueden ser resistentes a otros fármacos que compartan un mismo mecanismo de acción.

Estas interrelaciones existen principalmente entre agentes estrechamente relacionados desde el punto de vista químico (por ejemplo, aminoglucósidos diferentes) o con modos similares de enlace o de acción (por ejemplo, macrólidos-lincomicinas).

En ciertos tipos de fármacos el núcleo activo de la sustancia química es tan similar entre muchos congéneres (por ejemplo, tetraciclinas) que se puede esperar una amplia resistencia cruzada. (8)

### **3.7.2.5 Origen de la resistencia a los fármacos.**

El origen de la resistencia a los fármacos puede ser genético o no genético.

Resistencia de origen no genético a los fármacos.

La mayor parte de los antibacterianos requieren bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones. Por consiguiente, los microorganismos metabólicamente inactivos (fuera de su estado de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su descendencia es completamente susceptible. Ejemplo: las micobacterias con frecuencia sobreviven en los tejidos durante muchos años después que la infección ha sido limitada por las defensas del huésped y no se multiplican. Estos microorganismos "persistentes" son resistentes al tratamiento y no pueden ser erradicados por fármacos. No obstante, si comienzan a multiplicarse (por ejemplo, luego de suprimir la inmunidad celular del paciente) son totalmente susceptibles a los mismos fármacos. (8)

Los microorganismos pueden perder la estructura "blanco" específica de un fármaco durante varias generaciones y por tanto hacerse resistente. Ejemplo: los microorganismos susceptibles a la penicilina pueden cambiar a formas

deficientes de pared celular durante la administración de penicilina. La ausencia de la pared celular les confiere resistencia a los inhibidores de la pared celular (penicilinas, cefalosporinas) que puede persistir durante varias generaciones. Cuando estos microorganismos recuperan su forma bacteriana original y se restablece la producción de la pared celular, una vez más son susceptibles a la penicilina. (8)

Los microorganismos pueden causar infección en sitios inaccesibles a los antimicrobianos o donde éstos son inactivos. Ejemplo: los amino glucósidos como la gentamicina no es eficaz en el tratamiento de la fiebre entérica por **Salmonella** puesto que éstas son intracelulares y los aminoglucósidos no ingresan a las células. (8)

Resistencia de origen genético a los fármacos.

La mayor parte de los microorganismos resistentes a los fármacos surge como resultado de cambios genéticos y de los procesos subsecuentes de selección por los antimicrobianos. (8)

### **3.7.2 Limitación de la resistencia a los fármacos**

En toda infección el surgimiento de la resistencia a los fármacos puede reducirse al mínimo de las siguientes maneras: 1) mantener concentraciones del fármaco en los tejidos lo bastante grandes para inhibir la población nativa y la primera generación de mutantes; 2) administrar simultáneamente dos

fármacos que no produzcan resistencia cruzada para que cada uno retarde-el surgimiento de cepas mutantes resistentes al otro fármaco (por ejemplo, rifampicina e isoniacida en el tratamiento de la tuberculosis); y 3) evitar la exposición de los microorganismos a un fármaco particularmente valioso, cuyo empleo debe limitarse principalmente a los hospitales. (8)

### 3.7.3 Implicaciones clínicas de la resistencia a los fármacos

Unos pocos ejemplos ilustran el impacto del surgimiento de los microorganismos resistentes a los fármacos y su selección por el vasto empleo de antimicrobianos. (8)

Bacterias entéricas gramnegativas: En las bacterias entéricas casi toda la resistencia a los fármacos se atribuye a la extensa transmisión de plásmidos de resistencia entre los diferentes géneros. (8)

La **Salmonella** que habita en animales también ha desarrollado resistencia, en particular a los fármacos (sobre todo tetraciclinas) incorporados en los alimentos para animales. La práctica de incorporar fármacos en los alimentos para animales de granja tiene como objetivo hacerlos crecer con mayor rapidez, pero se acompaña de un incremento de los microorganismos entéricos resistentes a los fármacos en la flora fecal de las personas que trabajan en dichas granjas. Un aumento concomitante de las infecciones causadas por **Salmonella** resistente a fármacos en Inglaterra condujo a restringir los suplementos de antibióticos en los alimentos para animales. En Estados Unidos

el empleo continuo de suplementos de tetraciclina en los alimentos de animales quizá contribuya a la propagación de plásmidos de resistencia y de microorganismos resistentes a los fármacos. (8)

Muchas bacterias gramnegativas de la flora normal del intestino poseen plásmidos portadores de genes de resistencia a los fármacos. El empleo excesivo de antimicrobianos, sobre todo en los pacientes hospitalizados, condujo a la supresión de los microorganismos susceptibles a los fármacos en la flora del intestino y a favorecer la persistencia y el crecimiento de las bacterias resistentes, incluso *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* y *Serratia*, y hongos. El ambiente confinado de los hospitales favorece la transmisión de estos microorganismos resistentes a través del personal y de los fómites, y también por contacto directo. (8)

### **3.8 Pruebas para determinar la resistencia antimicrobiana**

#### **3.8.1 Prueba de sensibilidad por difusión con discos (fundamento). (25)**

El principio detrás de la técnica de análisis es bastante simple. Cuando un disco impregnado con antibiótico se pone en agar previamente inoculadas con la bacteria de la prueba, el disco recoge la humedad y el antibiótico difunde radialmente hacia el exterior a través de la producción de agar un gradiente de concentración del antibiótico. El antibiótico está presente en altas concentraciones cerca de la disco y afecta mínimamente los microorganismos susceptibles (microorganismos resistentes crecerán en el disco). A medida que

la distancia del disco aumenta, las gotas de concentración del antibiótico y sólo los patógenos más susceptibles son perjudicados. Una zona o un anillo claro está presente en todo un disco de antibiótico después de la incubación, si el agente inhibe el crecimiento bacteriano. Cuanto más amplia sea la zona que rodea el disco, más susceptible es el patógeno. El ancho de la zona es también una función de antibiótico de concentración inicial, su solubilidad, y su tasa de difusión a través de agar. Así, el ancho de zona no se puede utilizar para comparar directamente la eficacia de dos antibióticos diferentes. Actualmente, la prueba de difusión en disco que más utilizan es el método de Kirby-Bauer, que se desarrolló en la década de 1960. <sup>(29)</sup>

Con un asa de inoculación se toma a cuatro o cinco colonias aisladas del agente patógeno que crece en agar y luego utilizada para inocular un tubo de caldo de cultivo. Un hisopo de algodón estéril se sumerge en la prueba de suspensión bacteriana estandarizada y utilizada para inocular uniformemente toda la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton. Después de la superficie del agar se haya secado durante unos 5 minutos, los discos de antibiótico apropiado de ensayo se colocan en ella, ya sea con pinzas esterilizadas o con un dispositivo aplicador múltiple. La placa se coloca inmediatamente en una incubadora a 35. Después de 16 a 18 horas de incubación, los diámetros de las zonas de inhibición se miden con precisión de milímetros.

### 3.8.2 Limitaciones

La prueba de Bauer-Kirby, ha sido aceptada como la técnica estándar para la realización de las pruebas de sensibilidad por difusión con discos; en la mayoría de los casos brinda información útil. Hay, sin embargo, unas pocas limitaciones distintivas. La prueba sólo debiera aplicarse a especies bacterianas que han sido cuidadosamente evaluadas. Las bacterias que crecen con lentitud, las que necesitan nutrientes especiales, o las que requieren CO<sub>2</sub> o condiciones anaerobias para su desarrollo no deben probarse, a menos que la validez del procedimiento haya sido comprobada. (8)

### 3.9 Galerías API (34)

Es un sistema de identificación rápida para bacterias de la familia Enterobacteriaceae y otras bacterias gram negativas. Consta en 21 tests bioquímicos estandarizados y miniaturizados, y una base de datos.

La API 20 E consta de 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados. Estas pruebas se inoculan con una suspensión bacteriana que reconstituye los sustratos. Durante la incubación, el metabolismo produce cambios de color ya sea instantánea o revelada por la adición de reactivos.

Estas reacciones son leídas de acuerdo a la tabla de lectura, en la cual las pruebas están separadas en juegos de 3 microtubos y son evaluadas con 1,2, y 4 indicadas por cada microtubo. Obteniendo la suma de cada juego de 3

microtubos se forma un perfil de 7. La prueba de oxidasa constituye el test 21 y es evaluada con 4 si produce una reacción positiva. La identificación es obtenida introduciendo el perfil de 7 en el software de identificación.

Los microorganismos a ser identificados deben ser aislados sobre un medio de cultivo nutritivo o de acuerdo a técnicas microbiológicas.



## IV. DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 Tipo de estudio.

Campo: El muestreo se realizó en los mercados de Santa Tecla distribuidos de la siguiente manera: Mercado central de Santa Tecla, se muestreo 29 locales, y 1 local del mercado Dueñas; obteniendo una muestra de chorizo por local, utilizando para cada muestra media libra, de igual forma se evaluó las condiciones higiénicas en la elaboración de estos productos en el área de venta por medio de una hoja de cotejo. (Ver anexo N°. 1)

Experimental: El análisis se efectuó en dos partes: la primera se realizó en las instalaciones del laboratorio de microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) que consistió en el aislamiento de *Salmonella sp*, y la segunda consistió en el desarrollo del antibiograma tanto de los cultivos de cepa salvaje como la cepa ATCC, para conocer la resistencia de la bacteria a los antibióticos en investigación, esta etapa se realizó en las instalaciones del laboratorio de microbiología de Laboratorio Especializado en Control de Calidad (LECC);

Transversal: Dicho estudio se llevó a cabo en los meses Noviembre –Diciembre del año 2010

### 4.2 Investigación bibliográfica:

Visita y consulta en las bibliotecas de las siguientes instituciones:

- Biblioteca Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca central de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Central de la Universidad Centroamericana (UCA).
- Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Alberto Masferrer (USAM).

### **4.3 Investigación de campo**

#### **4.3.1 Hipótesis**

##### 4.3.1.1 Hipótesis nula

$H_0$ . La multirresistencia no depende del tipo de antibiótico ni del origen de la muestra

##### 4.3.1.2 Hipótesis alternativa

$H_1$ . La multiresistencia depende del tipo de antibiótico y del origen de la muestra

#### **4.3.2 Variables.**

Variable independiente: Multirresistencia ante los antibióticos

Variable dependiente: Antibiótico



## 4.5 PARTE EXPERIMENTAL.

Consiste en tres etapas:

- Aislamiento de ***Salmonella sp.*** Este procedimiento consiste en cinco etapas: a) Enriquecimiento no selectivo o pre-enriquecimiento, en un medio no inhibitorio. b). Enriquecimiento selectivo, en medios que promueven la proliferación de ***Salmonella sp*** e inhibe a microorganismos competitivos. c) Inoculación en medios selectivos y diferenciales para ***Salmonella sp.*** d) Purificación de las colonias sospechosas en Agar McConkey. e) Identificación por pruebas bioquímicas.
- Identificación de microorganismo aislado (Galerías API 20E).
- Prueba de Difusión en Discos.

## PROCEDIMIENTO.

### 4.5.1 Enriquecimiento <sup>(4)</sup>

Pesar asépticamente 10 gramos de muestra directamente en un frasco de dilución conteniendo 90 mL de Caldo Lactosado.

Incubar 24h a 35°C ± 2.0

#### 4.5.2 Aislamiento de *Salmonella sp.* <sup>(4)</sup>

- A las 24 horas tomar 1 mL de Caldo Lactosado y transferir a un tubo conteniendo 10 mL de caldo Tetrionato (TT), y tomar 1 mL para transferir a 10 mL de caldo Rapaport- Vassiliadis (RV). (Ver anexo 2)
- Incubar el Caldo TT a  $35 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$  y el Caldo RV a  $42 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  (En baño de agua termostáticamente controlado y con recirculación), por 24 horas
- Luego de 24 h de incubación, tomar con un asa estéril, aproximadamente 10 uL de Caldo TT e inocular sobre los medios diferenciales: Bismuto Sulfito, XLD y Hektoen Entérico.
- Proceder de la misma forma para los tubos de Caldo RV inoculados
- Incubar las placas por 24 h a  $35^{\circ}\text{C}$ .
- Observar las características de las colonias sospechosas: En agar Bismuto Sulfito las colonias sospechosas son de color negro, con o sin brillo metálico. En el Agar XLD las colonias sospechosas se observan de color rojo, algunas con centro negro. En el agar Hektoen entérico las colonias sospechosas se observan de color verde, algunas con centro alargado negro. (Ver anexo N<sup>o</sup>. 3)
- Inocular las colonias sospechosas en agar McConkey e incubar a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas

- Características de las colonias sospechosas: Colonias incoloras, algunas con centro negro
- De las colonias aisladas presuntivas sobre el agar McConkey inocular en placas de TSA e incubar a 35°C por 24 horas.

#### 4.5.3 Confirmación Bioquímica

Usar el crecimiento de la placa con medio agar TSA para las siguientes pruebas:

#### 4.5.4 Agar TSI

- Se siembra utilizando un asa en punta, colonias en estrías sobre la superficie del agar. Se incuban los tubos inoculados durante 24 h. a 35°C  $\pm$  2.
- Los tubos positivos para ***Salmonella sp.***, se obtienen los siguientes resultados: K/K, sin producción de gas y algunos con producción de H<sub>2</sub>S.

#### 4.5.5 Pruebas bioquímicas con API 20E. (Ver anexo N°. 6)<sup>(34)</sup>

- Picar una o dos colonias sospechosas de ***Salmonella sp.*** De las placas con agar TSA, con el asa bacteriológica estéril y formar una suspensión bacteriana, tomando como referencia un estándar Macfarland 0.5. (ver anexo N°.6)

- Colocar agua en los alveolos de la cámara API para proporcionar una atmosfera húmeda durante la incubación.
- Con la suspensión bacteriana de la muestra inocular los tubos de la galería, y los test CIT, VP y GEL, llenar hasta la cúpula.
- Colocar parafina estéril a la cúpula de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S. Esto se realiza con el objetivo de crear anaerobiosis.
- Cerrar la cámara de incubación
- Incubar a 35°C por 24 horas
- Anotar resultados transcurrido un tiempo de 24 horas.
- Al Pocillo VP colocar una gota de reactivo VP1 y una gota de Reactivo VP2. Esperar un minuto para que se dé la reacción y anotar el resultado
- Al pocillo IND colocar una gota de reactivo JAMES y anotar el resultado
- Al pocillo TDA colocar una gota de reactivo TDA y anotar el resultado

Del conjunto de reacciones y resultados obtener un perfil numérico de 7 cifras, el cual se introduce en el APIWeb 20E. (Ver Anexo N°. 9)

**4.5.6 Prueba de Sensibilidad por el Método de Difusión en Disco (Kirby-Bauer), para *Salmonella sp* aislada de las muestras.** <sup>(25)</sup> (Ver anexo N°.9)

**4.5.6.1 Preparación del estándar 0.5 MacFarland.** (Ver anexo N°.11)

Para estandarizar la densidad del inóculo se utilizó como estándar o patrón de comparación una suspensión de sulfato de bario 0.5 de la escala de Mac Farland), preparada de la siguiente manera:

Se agregó 0.5 ml de una solución de BaCl<sub>2</sub> 1% (P/V) a 9,5 ml de una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% (V/V) en constante movimiento para mantener la suspensión.

Esta corresponde a una concentración bacteriana de  $1 \times 10^8$ .

**4.5.6.2 Preparación del inóculo**

- De una placa de cultivo con el microorganismo aislado de la muestras incubadas por 18-24 h, se seleccionaron colonias aisladas y se preparo una suspensión directa en solución salina al 0.9%
- La suspensión se ajustó inmediatamente a la escala 0.5 de MacFarland. Se realizó a la vez, una suspensión con la bacteria de referencia ***Salmonella ATCC 10708***.



#### **4.5.6.3 Inoculación de las placas**

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de turbidez del inóculo se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso del líquido.
- Se inóculó la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando del hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de haber colocado los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial se absorbiera. El procedimiento anterior se realizó por duplicado.

#### **4.5.6.4 Aplicación de discos**

Los discos de sensibilidad utilizados fueron: Ampicilina 10 µg, Cloranfenicol 30 µg, Trimetropin-Sulfametoxazol 25 µg, Ceftriaxona 30 µg y Ciprofloxacina 5 µg.

- Se colocaron los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente sobre cada disco asegurándose un contacto completo con la superficie del agar.
- Los discos no se removieron una vez que tomaron contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

#### **4.5.6.5 Incubación**

- Se incubaron las placas a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, por un periodo de 16 a 24 horas.
- Después del tiempo de incubación se examinó cada placa y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco (Ver anexo N°. 9)
- Ver tabla de resistencia y sensibilidad en anexo N°.10

#### **4.5.6.6 Lectura de las placas e interpretación de resultados**

- Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco,) usando un calibrador, Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa Petri con luz reflejadora localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro. Se tuvo precaución de observar la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas del calibrador por efecto de paralelismo.
- El punto final se tomó como el área que no muestra un crecimiento obvio visible, que puede ser detectado mediante observación visual, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que puedan ser detectadas solo con mucha dificultad en el borde de la zona.

- Los diámetros de inhibición fueron interpretados. La sensibilidad de la cepa bacteriana es reportada como sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) (Ver anexo N°.10)

## V. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

El muestreo realizado en los dos mercados ubicados en Santa Tecla, departamento de La Libertad para la obtención de 30 muestras divididas de la siguiente manera: 29 muestras del mercado central de Santa Tecla y 1 muestra del mercado Dueñas; y su posterior análisis microbiológico en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos, dio como resultados los datos que a continuación se presentan.

### 5.1 Hoja de Cotejo para el diagnostico de las condiciones higiénicas de los locales que venden Chorizos. (Ver anexo N<sup>o</sup>.1)

Se realizó el diagnostico de cada uno de los locales mediante el uso de una hoja de cotejo para la observación de las condiciones higiénicas de las ventas de chorizos, dando los resultados siguientes:

#### 1. El producto es elaborado en el mismo lugar en el cual se encuentra la venta

Cuadro N<sup>o</sup>. 3. Porcentaje de Chorizo que es elaborado en el mismo lugar de venta.

Respuesta	Porcentaje (%)
SI	50.00 %
NO	50.00%

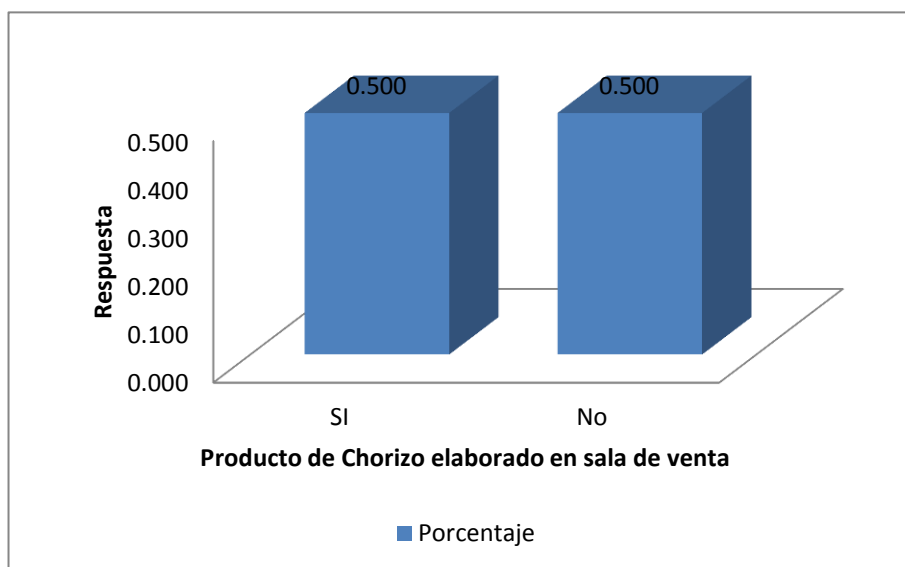


Figura N°. 1. Grafico de Porcentaje de Chorizo que es elaborado en el mismo lugar de venta.

En la Figura N°. 1. Se observa que un 50% de los locales realizan la producción de chorizos en el mismo lugar donde distribuyen el producto a la población. Se pudo observar que los locales son muy pequeños para la producción de chorizos, y además no cuentan con un área exclusiva libre de contaminación sino que se encuentran rodeados de muchas personas.

- 2. Cuenta el lugar con las condiciones necesarias para la elaboración de dicho producto.**

Cuadro N°. 4. Porcentaje de las condiciones necesarias que los locales poseen para la elaboración de chorizos

Condiciones Necesarias	SI	NO
Paredes, techo y pisos limpios	13.33%	86.67%
Cuentan con Refrigeradora	100.00%	0.00%
Drenaje y agua potable	100.00%	0.00%
Depósitos de desechos	90.00%	10.00%
Mesas en buen estado y limpias	66.67%	33.33%

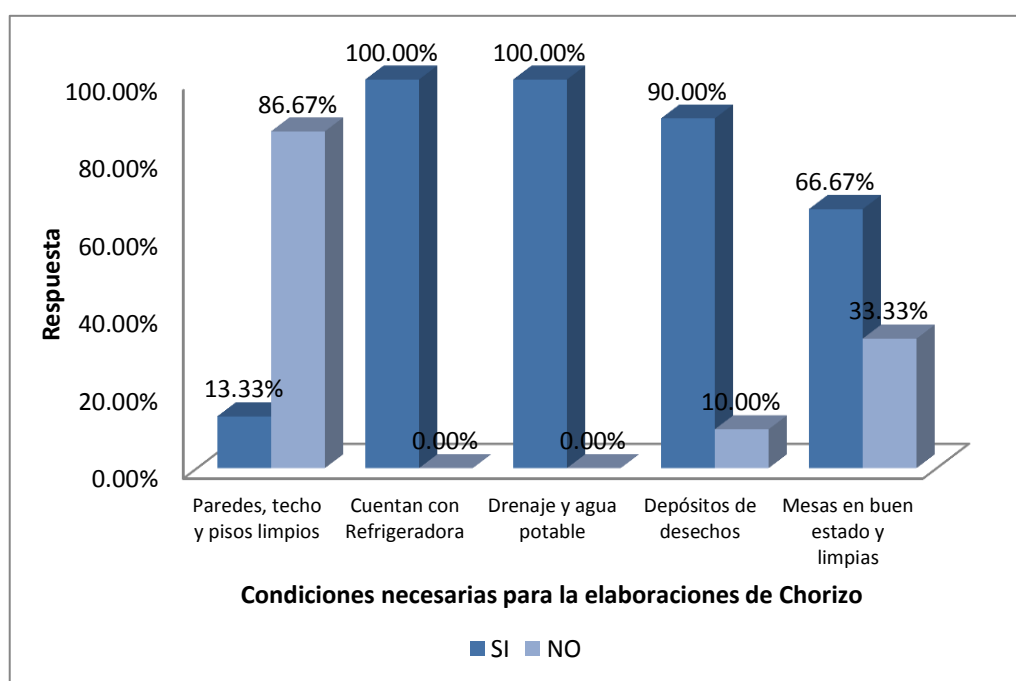


Figura N°. 2. Gráfico de porcentaje de las condiciones necesarias que los locales poseen para la elaboración de chorizos

En la figura N°. 2 Se observó que aunque los locales cuentan con todos los recursos para implementar una producción aséptica de chorizos, estos no dan el mantenimiento necesario a ellos. Pues aunque el 90% de los locales cuentan con depósitos para los desechos, se observaron los desechos en el suelo y en las mesas. También se observó que todos los locales cuentan con drenaje y

agua potable, sin embargo el 86.67% de los locales tienen paredes, techos y pisos sucios, y el 33.33% tienen mesas en mal estado y sucias.

El 100% de los locales cuentan con refrigeradora sin embargo se observó insectos sobre el producto y sobre la materia prima durante la elaboración.

### 3. El personal que elaboran el producto utilizan la vestimenta adecuada para la manipulación de las carnes con que se elabora el producto.

Cuadro N°. 5. Porcentaje de personal que utiliza la vestimenta necesaria para la elaboración del producto.

INSUMOS	SI	NO
Guantes	6.67%	93.33%
Redecillas	0.00%	100.00%
Gabacha	53.33%	46.67%
Mascarilla	0.00%	100.00%

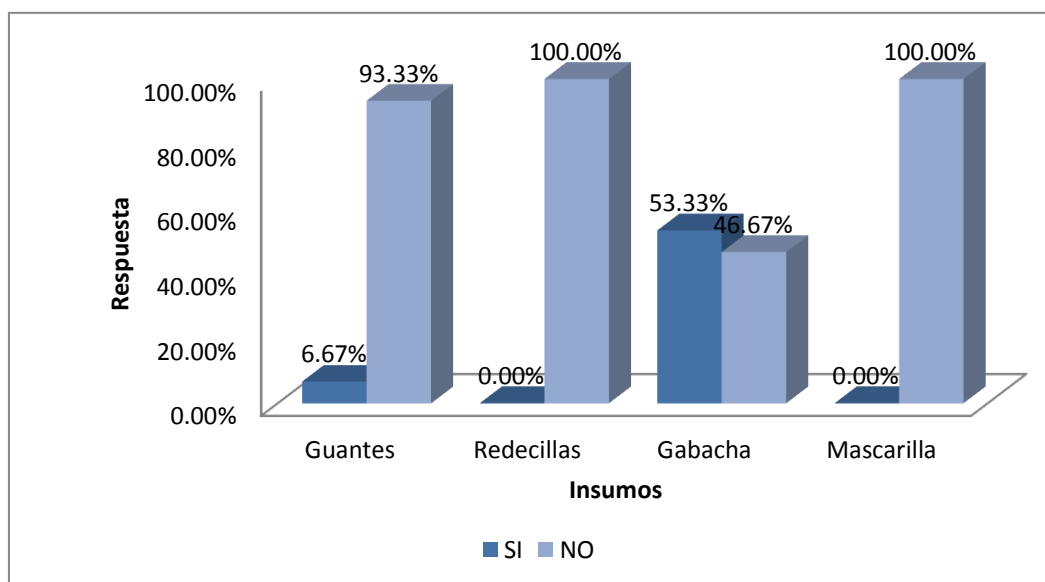


Figura N°. 3. Grafico de porcentaje de personal que utiliza la vestimenta necesaria para la elaboración del producto.

En la figura N°. 3 Se observa que el personal no cuenta con la vestimenta necesaria para una aséptica elaboración de chorizos, ya que el 100% del personal no utiliza redecilla ni mascarilla durante la manipulación de la carne; solamente el 6.67% utiliza guantes; se pudo observar que aunque el 53.33% utilizan gabachas, las cuales no se encuentran limpias, sino con muchos residuos de carne y suciedad en general, así como también se encontraban rotas y desarregladas.

#### **4. El material utilizado para elaborar el producto se encuentra en buen estado y limpio**

Cuadro N°. 6. Porcentaje de Material que se encuentra en buen estado y limpio para la elaboración de chorizos.

<b>INSUMOS</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
Cuchillos	70.00%	30.00%
Maquina Embutidora	6.67%	93.33%
Depósitos de almacenamiento de materia prima	0.00%	100.00%
Depósitos de producto terminado	53.33%	46.67%



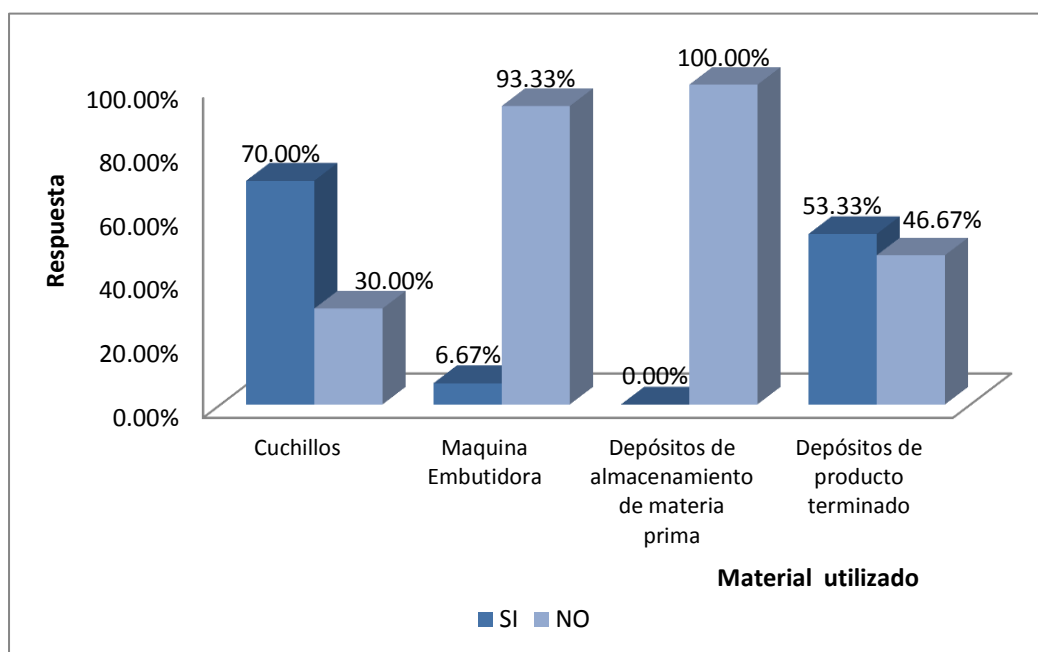


Figura N°. 4. Gráfico de porcentaje de Material que se encuentra en buen estado y limpio para la elaboración de chorizos.

En la figura N° 4, se puede observar que la mayoría de locales se enfocan en la limpieza de los cuchillos y los depósitos para el producto terminado, sin embargo, no dan la importancia a la limpieza de la máquina embutidora pues solo en el 6.67% de los locales observados las máquinas embutidoras se encontraban limpias; las mismas condiciones se observaron para los depósitos de materia prima pues el 46.67% de locales observados tenían los depósitos sucios; pudiendo ocasionar contaminación al producto. También se observó que en la limpieza solamente utilizaban jabón comercial y agua potable.

## 5. Se elabora otro tipo de producto

Cuadro N°. 7. Porcentaje de elaboración de otro tipo de producto en máquina embutidora

Respuesta	SI	NO
Se elabora otro producto	0.00%	100.00%

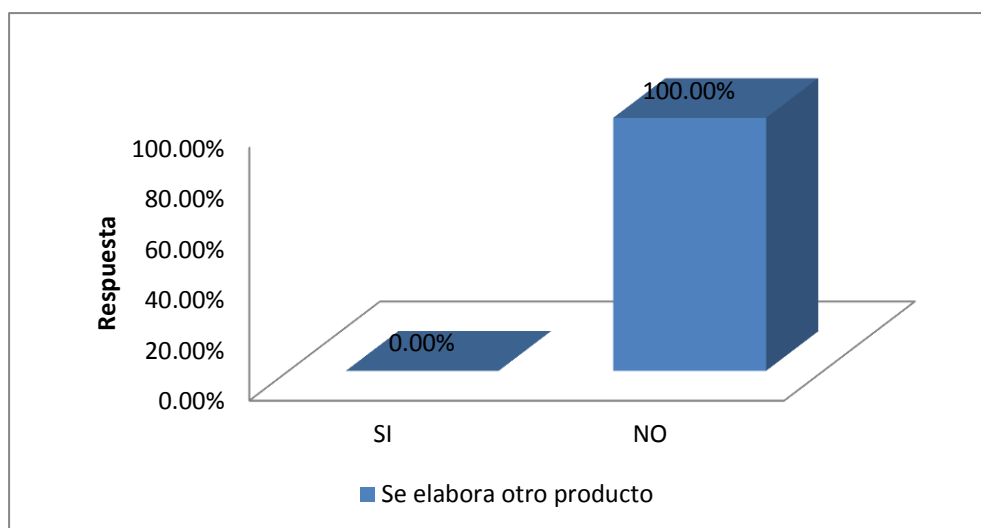


Figura N°. 5. Gráfico del porcentaje de elaboración de otro tipo de producto en máquina embutidora

En la figura N°. 5 se puede observar que los comerciantes utilizan la máquina embutidora exclusivamente para la elaboración de chorizos, lo que evita una contaminación cruzada.

## 6. El producto es almacenado en las condiciones adecuadas

Cuadro N°. 8. Porcentaje de producto que es almacenado en las condiciones adecuadas

Condiciones de Almacenamiento	SI	NO
Refrigerador	97.00%	3.00%
Sistema de refrigeración durante venta	40.00%	60.00%

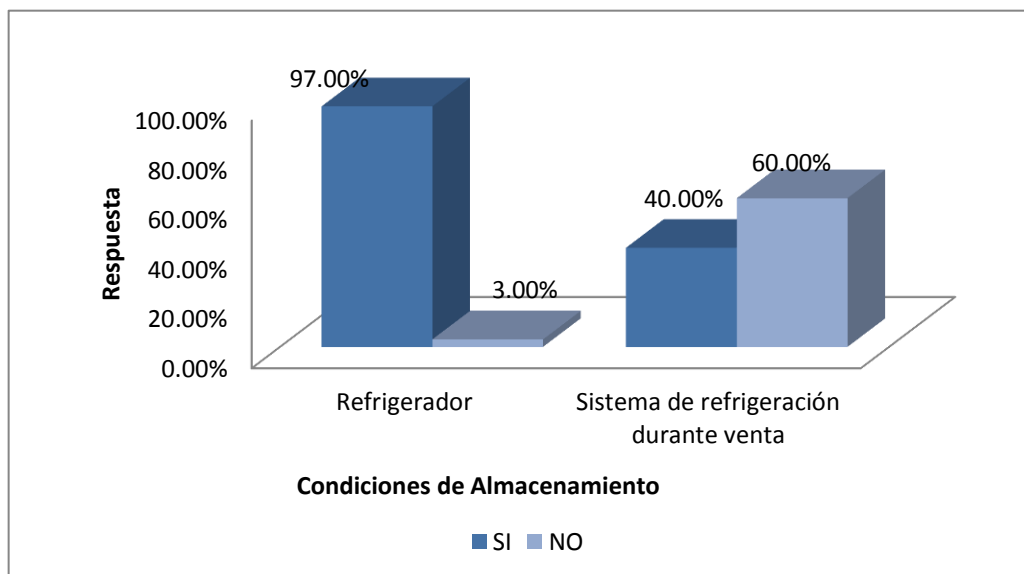


Figura N°. 6. Gráfico de porcentaje de producto que es almacenado en las condiciones adecuadas.

En la figura N°. 6 se puede observar que aunque el 97% de los locales cuentan con refrigerador, este solo es usado para el almacenamiento del chorizo mientras este no se encuentra a la venta; de igual forma observamos que el 60% de los locales no utilizan un sistema de refrigeración que les permita tener el producto en enfriamiento mientras éste se encuentra a la venta, sino que lo mantienen a temperatura ambiente, lo que podría ocasionar un aceleramiento de deterioro al chorizo o provocar el crecimiento bacteriano en el producto.

**7. El producto se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta como en el lugar de elaboración.**

Cuadro N°. 9. Porcentaje de Producto que se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta y de elaboración.

Condiciones de Almacenamiento	SI	NO
Lugar de Venta	10.00%	90.00%
Lugar de Elaboración	0.00%	100.00%

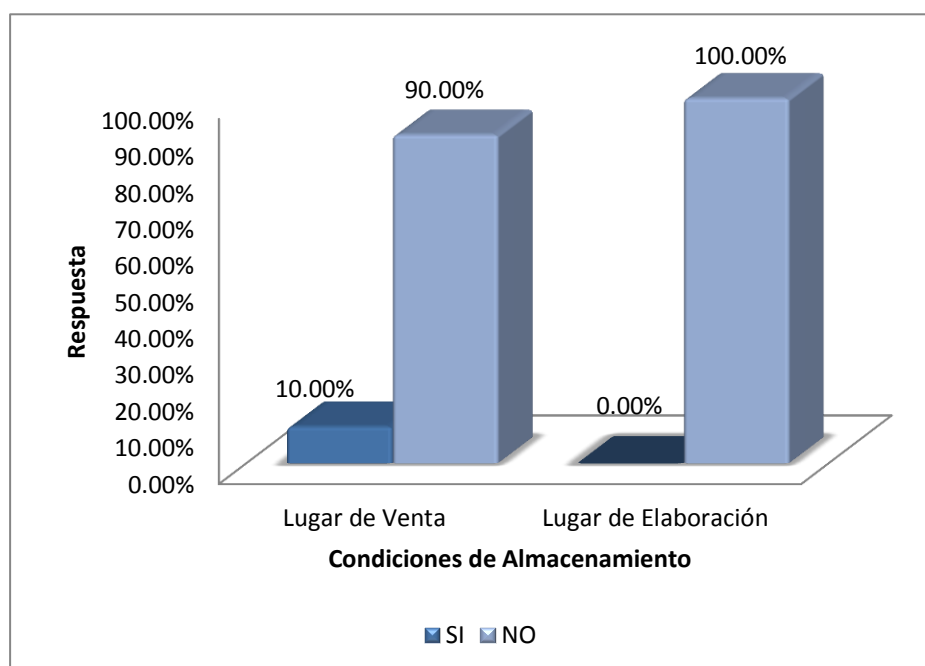


Figura N°. 7. Gráfico de porcentaje de producto que se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta y de elaboración.

En la figura N° 7 se refleja que es evidente que los comerciantes no tienen conocimiento de la importancia de una buena protección del producto, ya que tanto en el lugar de elaboración como en lugar de venta el producto se observó que es expuesto a la contaminación, pues no se le proporcionan una protección mínima ni ante los insectos, que son vectores importantes de los

microorganismos ni ante la misma contaminación humana; lo que podría ocasionar la contaminación microbiana de los chorizos.

## 8. Se limpia o desinfecta la máquina para embutir

Cuadro N° 10. Porcentaje de maquina embutidora que se limpian o desinfectan

Sustancias que se utilizan	SI	NO
Agua potable	100.00%	0.00%
Jabón	73.33%	26.67%
Desinfectante	0.00%	100.00%

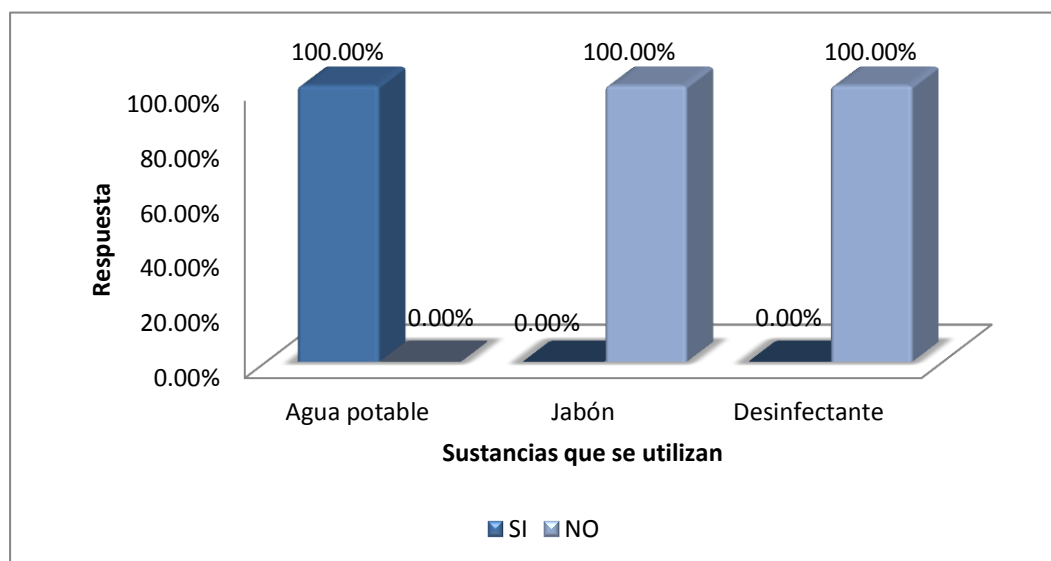


Figura N° 8. Gráfico de Porcentaje maquina embutidora que se limpian o desinfectan

En el grafico N° 8 se observa como el proceso de limpieza utilizado no es el adecuado para el equipo, ya que en el proceso de limpieza de la maquina embutidora solamente se utiliza jabón detergente comercial y agua potable, esto podría estar ocasionando un constante crecimiento microbiano dentro del equipo debido a la falta de desinfectante en el proceso de limpieza. El 73.33 %

de locales utilizan jabón detergente para la limpieza de la maquina embutidora pero el uso de jabón no es suficiente para una buena desinfección.

## PARTE EXPERIMENTAL

El Diseño experimental se dividió en tres procesos, los cuales fueron:

- El aislamiento de ***Salmonella sp***, que consistió en tres etapas: etapa de pre-enriquecimiento que nos sirvió para proporcionarle al grupo de bacterias los nutrientes necesarios para que pudiera crecer; etapa de enriquecimiento selectivo, se le proporciona al microorganismo ***Salmonella sp*** los nutrientes para sobrevivir y además el caldo posee suplementos para inhibir el crecimiento de otras bacterias que pueden competir por el nutriente; y etapa diferencial, que es donde ***Salmonella sp*** nos proporciona colonias características que nos ayudan a diferenciarlas y poder aislarlas.
- El segundo proceso consistió en la Identificación de ***Salmonella sp*** por medio de galerías API. En este proceso se realizó primero la purificación de la bacteria utilizando agar MacConkey que también nos clasifica las bacterias lactosa positiva y lactosa negativa; luego se utilizó caldo inclinado TSI como prueba bioquímica para confirmar el aislamiento de la bacteria y para poder realizar la identificación se utilizó las galerías API
- En el tercer proceso se realizó un antibiograma por el método de Kirby-Bauer con las bacterias identificadas de ***Salmonella sp***, utilizando los discos de antibióticos establecidos.

A continuación se presentan los resultados de cada uno de los procesos realizados en la parte experimental.

Cuadro N° 11. Resumen de Resultados del Análisis de aislamiento e identificación de ***Salmonella sp*** a partir de muestras de chorizo.

Control de muestra	TT			RP-VS			McConkey	Pruebas Bioquímicas		API
	XLD	BS	HEKTOEN	XLD	BS	HEKTOEN		TSI	Movilidad	
1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
4	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
9	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
10	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
18	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
30	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

-: Negativo

+.: Positivo



Se examinaron 30 muestras de chorizos, a las cuales se les analizó bajo las mismas condiciones y siguiendo el mismo proceso. El cuadro No. 9 nos muestra los resultados de las 30 muestras en cada uno de las etapas realizadas. Se puede observar que se obtuvo información importante de las siembras sobre agar McConkey y TSI para seleccionar las muestras que utilizaríamos para la siguiente etapa de identificación por galerías API. Durante el proceso de análisis fueron factores críticos, la temperatura, el tiempo de incubación y el analista, refiriéndose al manejo de muestras asépticamente.

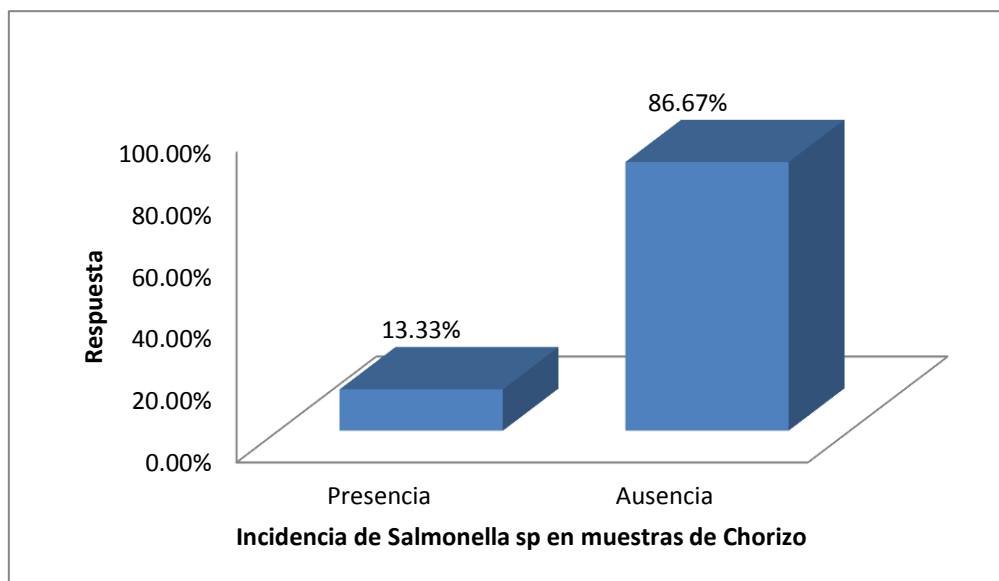
Cuadro N° 12. Resultados de Bacterias Identificadas por API 20 E.

Control de Muestra	Bacteria Identificada	% ID
003	<i>Citrobacter freundii</i>	76.0
004	<b>Salmonella sp</b>	99.9
010	<i>Providencia rettgeri</i>	90.0
012	<b>Salmonella sp</b>	99.9
013	<b>Salmonella sp</b>	99.9
018	<i>Providencia rettgeri</i>	90.0
019	<b>Salmonella sp</b>	99.9

De las 30 muestras analizadas, 7 muestras presuntivas fueron ensayadas por galerías API, de las cuales solamente 4 de las cámaras API incubadas proporcionaron un perfil de **Salmonella sp**, como se puede observar en el cuadro N° 10. Los perfiles que se introdujeron al APIWeb proporcionan un porcentaje de confianza (% ID) para la identificación de la bacteria, con lo que se puede evaluar si se rechaza o no la prueba de galería API. (Ver anexo N°.15)

Cuadro N° 13. Porcentaje de muestras con presencia de *Salmonella sp.*

Resultado	Porcentaje
Muestras con presencia de <i>Salmonella sp</i>	13,33%
Muestras con ausencia de <i>Salmonella sp</i>	86,67%

Figura N° 9. Gráfico de las muestras con presencia de *Salmonella sp.*

Del 100 % de las muestras ensayadas, en el 13.33% de las muestras se aisló *Salmonella sp.* Pero es importante mencionar que aunque solo en 4 muestras se identificó *Salmonella sp.*, se observó que las muestras restantes presentaron abundante crecimiento de bacterias gram negativas en mayor concentración, aunque también se pudieron observar bacterias gram positivas, lo que nos indica la alta concentración microbiana que existe en productos cárnicos como los chorizos.

Cuadro N° 14. Cuadro Interpretativo del halo obtenido, basado en Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Disk tests, CLSI (formerly NCCLS). (3) (Ver anexo N°.10)

Antibiótico	Código	mcg/ disco	Símbolo	Resistente	Intermedio	Sensible
				mm o menos	Mm	mm o mas
Ampicilina	SD002-1CT	10	A	13	14-16	17
Ciprofloxacina	SD060-1CT	5	Cf	15	16-20	21
Ceftriaxona	SD065-1CT	30	Ci	13	14-20	21
Cloranfenicol	SD006-1CT	30	Ce	12	13-17	18
Trimetropin-Sulfametoxazol	SD010-1CT	25	Co	10	11-15	16

Cuadro N° 15. Valores promedio de los resultados de diámetro (mm) obtenidos en la prueba de difusión en discos (Kirby Bauer). (Ver anexo N°.16)

Antibiótico / Muestra	Muestra 13	Muestra 19	Muestra 12	Muestra 4	Cepa ATCC
Ampicilina 10 µg	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm	9 mm
Ciprofloxacina 5 µg	25 mm	30 mm	31 mm	27 mm	33 mm
Trimetropin-Sulfa 25 µg	8 mm	12 mm	13 mm	20 mm	17 mm
Ceftriaxona 30 µg	20 mm	21 mm	22 mm	20 mm	23 mm
Cloranfenicol 30 µg	27 mm	24 mm	24 mm	27 mm	30 mm

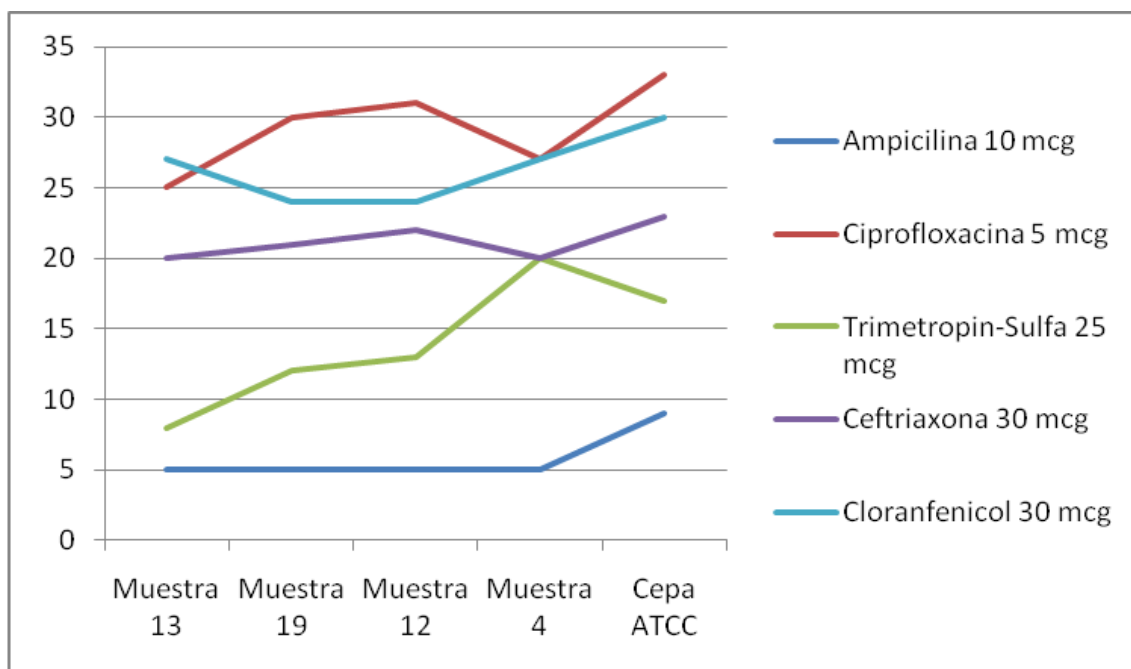


Figura N° 10. Valores promedio de los resultados de diámetro (mm) obtenidos en la prueba de difusión en discos (Kirby Bauer).

Las muestras ensayadas con los antibióticos establecidos presentaron respuesta similares ante los antibióticos Cloranfenicol, Ampicilina, Ceftriaxona y Ciprofloxacina, pero ante el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol las 4 muestras presentaron respuestas diferentes e independientes. En la figura N°.10 se puede observar que existe una tendencia de crecimiento cuando se trata de la cepa ATCC, pues es en la que se obtuvo mayor diámetro de halos ante los antibióticos ensayados. (31 mm)

Cuadro N° 16. Porcentaje de resistencia antimicrobiana presentada por *Salmonella sp.*

Antibiótico / Muestra	Porcentaje de resistencia.		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina 10 µg	0.0 %	0.0 %	100.0 %
Ciprofloxacina 5 µg	100.0 %	0.0 %	0.0 %
Trimetropin-Sulfametoxazol 25 µg	25.0 %	50.0%	25.0 %
Ceftriaxona 30 µg	100.0 %	0.0 %	0.0 %
Cloranfenicol 30 µg	100.0%	0.0%	0.0%

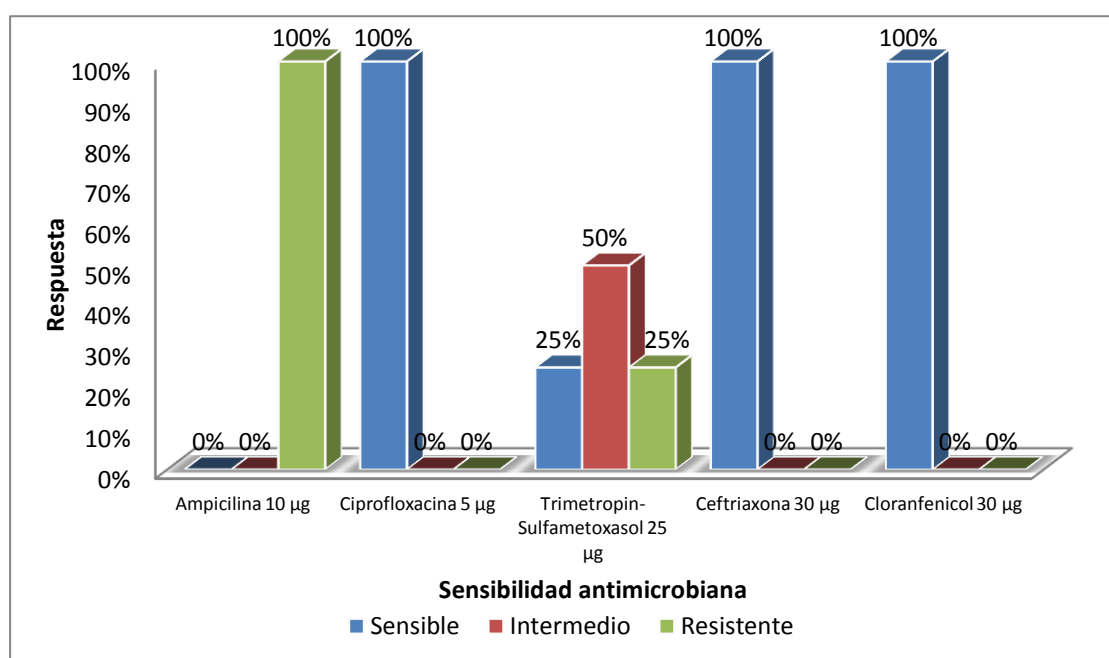


Figura N° 11. Gráfico de las muestras de chorizo con *Salmonella sp* que presentan resistencia antimicrobiana.

En la figura N° 11 se observa que el 100% de las muestras fueron Resistente ante el antibiótico Ampicilina y el 25% fue resistente ante el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol. Los cultivos de cepas salvajes aislados a partir de las muestras de chorizos fueron 100.0% sensible ante los antibióticos Cloranfenicol, Ciprofloxacina y Ceftriaxona y el 25.0% ante el antibiótico

Trimetropin-sulfametoxazol. Y entre los cultivos ensayados el 50.0% presento sensibilidad intermedia ante el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol.

Cuadro N° 17. Clasificación de los perfiles de resistencias presentados por la cepa control (ATCC)

Antibiótico.	Clasificación de sensibilidad.
Ampicilina 10 µg.	Resistente
Ciprofloxacina 5 µg	Sensible
Trimetropin-Sulfametoxazol 25 µg	Sensible
Ceftriaxona 30 µg	Sensible
Cloranfenicol 30 µg	Sensible

Según el análisis realizado, podemos observar que la cepa **Salmonella ATCC 10708**, presenta sensibilidad ante los antibióticos Ciprofloxacina 5 µg, Ceftriaxona 30 µg, Cloranfenicol 30 µg y Trimetropin-Sulfametoxazol 25 µg; por el contrario presenta resistencia ante el antibiótico Ampicilina 10 µg.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los chorizos derivados de ganado porcino y bovino que se muestrearon en los mercados de Santa Tecla, no cumplen con las medidas de higiene alimentaria necesarias para su elaboración y comercialización
2. Se identifico un 13.33 % de incidencia de ***Salmonella sp*** en las muestras de chorizo recolectadas en los mercados de Santa Tecla
3. Del total de muestras analizadas el 86.67% no posee incidencia de ***Salmonella sp***, sin embargo, en el proceso de aislamiento se detectaron otras bacterias gram negativas, lo cual indica una baja calidad microbiológica del producto y por lo que no es apto para el consumo humano.
4. En la multirresistencia que presentaron los cultivos de cepas de ***Salmonella sp***, se aceptó la hipótesis alternativa: la multiresistencia depende del tipo u origen de la muestra así como del tipo de antibiótico.
5. Los cultivos de cepas salvajes aislados e identificados de ***Salmonella sp***, presentan sensibilidad ante los antibióticos Ciprofloxacina 5 µg, Ceftriaxona 30 µg, Cloranfenicol 30 µg.
6. Los Cultivos de cepas aisladas presentaron respuestas diferentes (sensible 25%, intermedio 50% y resistente 25%) ante Trimetropin-Sulfametoxazol.

7. El antibiograma realizado a las muestras de chorizo seleccionadas con presencia de ***Salmonella sp*** demuestra que los cultivos de cepas salvajes son resistentes al antibiótico Ampicilina 10µg.
  
8. La resistencia de chorizos es debido posiblemente al uso indiscriminado de antibióticos en animales, los cuales pueden transmitirse al hombre por el uso de estos alimentos, representando un problema de salud por el aumento del riesgo de diseminación de estas cepas resistentes



## VII. RECOMENDACIONES.

1. Realizar futuros estudios orientados a la investigación de la calidad de los chorizos comercializados en otros lugares del país utilizando mayor número de muestras, ya que durante el desarrollo de la investigación se encontraron otros microorganismos diferentes de ***Salmonella sp.***, los cuales pueden ser agentes patógenos causantes de enfermedades.
2. A las instituciones competentes del área de salud, como el Ministerio de Salud, ONG's u otras instituciones, agregar programas de capacitación para el manejo y uso de instalaciones adecuadas dirigidas al personal que elabora, distribuye y comercializa chorizos u otros tipos de carne.
3. Al Ministerio de Salud Pública realizar monitoreo periódicamente, para el control de la calidad de los productos alimenticios que se comercializan en los mercados de todo el país.
4. A la Universidad de El Salvador, gestionar convenios o proyectos de Microbiología, enfocadas a la calidad de los productos alimenticios del país.
5. Al gremio de médicos no incluir el antibiótico Ampicilina para el tratamiento de enfermedades producidos por ***Salmonella sp.***, ya que la cepa salvaje de este agente patógeno presentó resistencia frente a este antibiótico.

6. A las alcaldías y Unidades de Salud de los municipios, inspeccionar periódicamente las condiciones de saneamiento y calidad de alimentos que se comercializan en sus mercados.

## BIBLIOGRAFIA.

1. Altekruise, S.F., Cohen M.L, Swerollow D.L., Emerging foodborne diseases Emerg Infect Dis, 3, 1997, p 285-293.
2. Arévalo, M., Garcia EV., Evaluación de la presencia de ***Escherichia Coli***, ***Shigella spp*** y ***Salmonella spp*** en diferentes etapas del manejo y manufactura del langostino (***Pleuroncodes planipes***) en El Salvador. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en medicina veterinaria y zootecnia, 2007, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 216p
3. Arias, I.B., Meza L.A. 2004, Resistencia antimicrobiana de ***Salmonella***, ***Shigella***, ***Vibrio cholerae***, Revista peruana de medicina experimental y salud publica, vol. 21, , Perú 1997-2002, p 273-275. Consultado 17 de Abril, 2010.
4. Bacteriological Analytical Manual. Online. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>.
5. Barrera, M. Determinación del perfil de Resistencia antibiótica de ***Escherichia coli***, ***Klebsiella oxytica*** y ***Klebsiella pneumoniae*** en el sanatorio privado “Nuestra señora del Pilar”, Licenciatura en Biología

Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2005. , p 5. Disponible en: <http://biblioteca.usac.edu.gt>

6. Bello, LA., Abarca C.M. Incidencia de ***Salmonella*** en chorizos que se expenden en Acapulco, Guerrero, Salud Pública México, Vol. 33(2), 1991, p178-183. Consultado 23 de Abril, 2010
7. Bello, LA., Abarca M.C., Domínguez V., Ortiz D.M., Pérez E. ***Salmonella*** en carnes crudas: un estudio en localidades del estado de Guerrero. Salud Pública México; Vol. 32(1), 1990. p 74-79. Consultado 10 de Marzo, 2010.
8. Brooks, F.G., Butel J.S., Jawetz E., Melnick J.L., Ornoston L.N., AldbergE.A.. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg, 16ª ed, México DF, Editorial El Manual Moderno, 1999. p 278-285.
9. Burrows, W., Cotran, R. S., Kumar V.. Tratado de Microbiología, 10ª ed, México D.F, Nueva Editorial Interamericana, S.A de C.V., 1973. p 240; 432.
10. Crump, JA. Griffin, P.M, Angulo F.J. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. Clinical Infect Disease 35:, 2002. p 859-865.
11. Cunha, BA. Antibiotic resistance. Med Clin North. 84, 2000. p 1407-1421.

12. Dickison, PW. Management and avoidance of antibiotic resistance. American Academy of family Physicians 52<sup>nd</sup> Annual Scientific Assembly, Texas. 2000.
13. Faura, C., Martín M.A., Ordoñez G., Rodríguez E.F. La **Salmonella**, de Actualidad desde siempre, 1<sup>o</sup> Edición, Barcelona, España. 2002, p 17.
14. FDA (Food and drug administration, U.S). AOAC International. Bacteriological Analytical Manual. 7<sup>th</sup> Ed. 1992. p 51-69. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>.
15. FDA (Food and Good Administration U.S). Sistema Nacional de Monitoreo de la Resistencia Antimicrobiana Bacterias Entéricas, Consultado el 17 de Abril, 2010.
16. García, J., Isibasi A., Kumate J., Paniagua J., Pelayo R., Factores de Virulencia de **Salmonella typhi** en relación al desarrollo de nuevas vacunas. v 31, México, 1989. Disponible: <http://www.insp.mx>
17. HIMEDIA, BG. BioScience Catalogue, si. 1995. P 304-308.
18. Ibar, MP, Giacoboni G. Piñero M., Quiroga P., Perfumo C., Vigo G., et al. Serovariedades de **Salmonella entérica** subespecie entérica en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. Revista argent. microbiol.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires. v 41 n.3. 2009. Consultado 10 de marzo, 2010.

19. Isenberg, HD. Fritsche TR, Lancz G, Clinical Microbiology Procedures Handbook American Society for Microbiology. Washington, D.C. v 1. 1992.
20. Katzung, BG., Trevor AJ., Pharmacology: Examination and boarded review. Appleton & Lange. Norwalk Connecticut, 1995. p 509.
21. Khachatourians, GG, Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. 1998. p.159: 1129-1136
22. Konneman, E., Allen S., Janda WM., Schreckenberger PC., Diagnostico microbiológico, texto y atlas color, 5ª edición, Argentina, Editorial medica Panamericana. 1997. p 796-800
23. Lázaro, W. Técnicas de muestreo estadístico, 1º Edición, San Salvador, El Salvador. 2006. p 20
24. Levinson, W.E., Jawetz E., Medical microbiology & Immunology. Appleton & Lange. Norwalk, Connecticut, 1994. 491p.
25. Manual de pruebas de susceptibilidad. Online, disponible en: <http://grupos.emagister.com/ficheros/dspflashview?idFichero=361731>.
26. Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social, ES. Vigilancia Epidemiológica, San Salvador. 2010. Disponible en: [www.salud.gob.sv](http://www.salud.gob.sv)

27. Oosterom, J. Epidemiological studies and proposed preventive measures in the fight against human salmonellosis. *Int. J Food Microbiol.* 1991. p 12: 41-51.
28. Polanco, E. *Salmonelosis: Diagnostico, tratamiento y profilaxis*, Colección No. 52, Maracay, Venezuela. 1996. Disponible en: <http://sian.inia.gob.ve>
29. Prescott, H., L.M., Harley, J.P., Klein, D.A *Microbiology*. 2 ed. Wm. C. Brown publishers, 1990-1993. p. 330.
30. Puig, P., Virginia L., Tamara K.M., Castillo Z. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella sp.* Aisladas de alimentos, *Rev. Habana Cienc. Méd. La Habana.* vol VII No. 2. 2008. Consultado 17 Abril, 2010.
31. Silva, M., Pino T., Enrich C., Agentes vivos de enfermedades más prevalentes en Chile. 1ª edición, UNAB. 2006. Disponible en: <http://Salmonellaunab.blogspot.com>.
32. Silva, M. *Salmonelosis*, 1º Edición, Chile, UNAB. 2007. Disponible en: <http://Salmonella-spp.blogspot.com>
33. Trejo, MC., Funes F.R. Evaluación de la contaminación microbiológica e identificación de ***Salmonella*** en carnes de pollo comercial en el área de San Salvador. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 1985.

34. APIWeb. bioMerieux SA. (Internet). bioMerieux Clinical Diagnostics.,  
bioMerieux Corporate web site., Francia.1996- 2012 Disponible en:  
<https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>



## **GLOSARIO.**

**ATCC:** en inglés, American type culture collection. Es una organización privada sin fines de lucro cuya misión se centra en la adquisición, autenticación, producción, conservación, desarrollo y distribución de referencia estándar de microorganismos, líneas celulares y otros materiales para la investigación en la ciencia de la vida

**Cepa ATCC:** American Type Culture Collection [ATCC] es un material biológico de referencia certificado. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro, y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes. (25)

**Galería API 20E:** (Sistemas de identificación multipuebas). La batería de pruebas API20E es un sistema de identificación rápida para bacterias de la familia Enterobacteriaceae y otras bacterias Gram -. Básicamente consta de 21 tests bioquímicos estandarizados y miniaturizados, y una base de datos. Este sistema presenta las ventajas de ser rápido, eficaz y de permitir realizar numerosas pruebas a la vez. Cada tira de API 20E contiene 20 microtubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados. Cada tubo es una prueba bioquímica distinta. La prueba número 21, la oxidasa, se hace de forma independiente a la tira. (19)

**NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards, el cual desde enero del 2005 oficialmente cambio su nombre a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (17)

**TSI:** Tri Sugar Iron. Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico. (29)

## **ANEXOS**

**ANEXO N° 1**  
**HOJA DE COTEJO.**



## HOJA DE COTEJO SOBRE CONDICIONES HIGIENICAS DE LOS CHORIZOS COMERCIALIZADOS EN LOS MERCADOS DE SANTA TECLA

Objetivos: Conocer las condiciones higiénicas y de elaboración que se les da los chorizos comercializados en los mercados de Santa Tecla.

1. El producto es elaborado en el mismo lugar, en el cual se encuentra a la venta: Si  No

2. Cuenta el lugar con las condiciones necesarias para la elaboración de dicho producto:

- Paredes, techo y piso limpios. Si  No
- Cuentan con refrigerador. Si  No
- Drenaje y agua potable. Si  No
- Depósitos de desechos. Si  No
- Mesas en buen estado y limpias. Si  No

3. El personal que elabora el producto utiliza la vestimenta adecuada para la manipulación de las carnes con que es elaborado el producto.

- Guantes Si  No
- Redecillas Si  No
- Gabacha. Si  No
- Mascarilla. Si  No

4. El material utilizado para elaborar el producto se encuentra en buen estado y limpio.

- Cuchillos. Si  No

- Maquina embutidora. Si  No
- Agua utilizada. Si  No
- Depósitos de almacenamiento de materia prima. Si  No
- Depósitos de producto terminado. Si  No

5. Se elabora otro tipo de producto. Si  No

- ¿Qué tipo de producto? \_\_\_\_\_

- Esta siendo elaborado en la misma en la que se preparan los chorizos. Si  No
- Ambos son almacenados en el mismo lugar. Si  No

6. El producto es almacenado en las condiciones adecuadas.

- Refrigerador. Si  No
- Mientras el producto está a la venta, (Vista al publico) cuenta con algún tipo de sistema de refrigeración. Si  No

7. El producto se encuentra protegido de insectos en el lugar de venta como en el lugar de elaboración.

Si  No

8. Se limpia o desinfecta la máquina para embutir

- Utiliza agua potable. Si  No
- Utiliza cualquier tipo de jabón. Si  No
- Es usado un desinfectante específico. Si  No

**ANEXO N° 2**  
**MATERIALES Y EQUIPO DE LABORATORIO. (4)**

## **Materiales y equipo de laboratorio.**

### MATERIALES Y EQUIPO

- Cuchillos estériles
- Cucharas estériles
- Frascos de dilución
- Pipetas de 10 mL
- Pipetas de 5 mL
- Pipetas de 1 mL
- Placas de Petri de plástico vacías estériles
- Placas de Petri de plástico triespacios
- Placas de Petri de Vidrio
- Tubos con tapón de rosca
- Perilla
- Lámpara de luz UV
- Baño de María
- Estufa
- Mechero
- Asa de siembra
- Hisopos



- Termómetro
- Incubadora
- Balanza
- Regla
- Pizeta
- Gotero de plástico
- Cámara de Bioseguridad
- Pinzas estériles
- Parafina líquida estéril
- Probeta
- Balón volumétrico 100.0 mL
- Jeringa de 1 mL
- Gradillas

## MEDIOS DE CULTIVO

- Caldo Lactosado
- Caldo Tetrionato (TT)
- Solución Salina
- Caldo triplicada Soya (CASO)
- Caldo Rapaport - Vassiliadis(RV)

- Agar TSI (triple azúcar hierro)
- Agar motilidad
- Agar MacConkey
- Agar Bismuto – Sulfito
- Agar Hektoen entérico
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)
- Agar Mueller- Hinton

**ANEXO N° 3**

**Aislamiento de *Salmonella sp.*(4)**

PRE- ENRIQUECIMIENTO

Pesar 10 g de muestra, en 90 mL de Caldo Lactosado

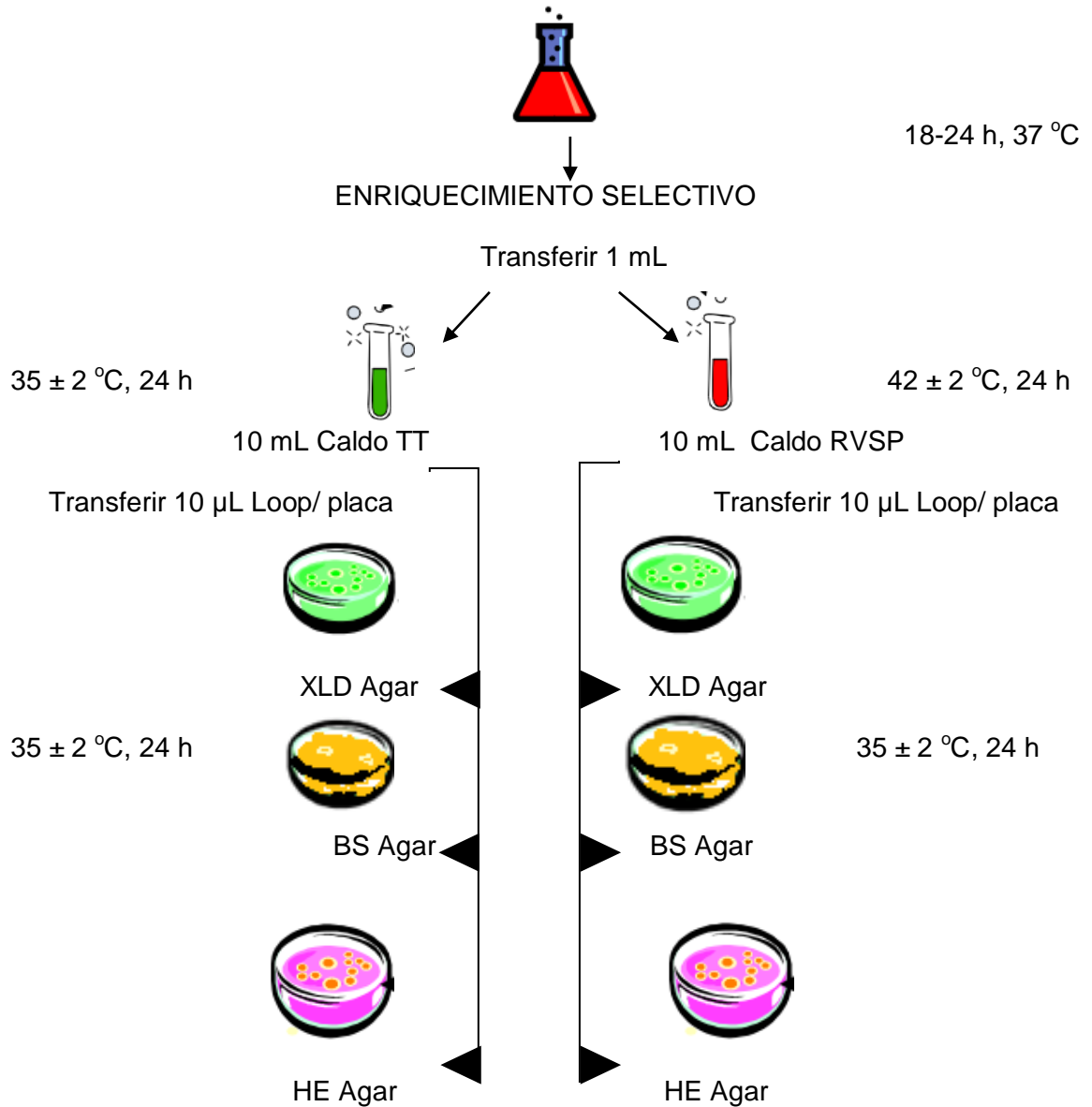


Figura N° 12. Esquema del procedimiento para el aislamiento de *Salmonella* *sp.*

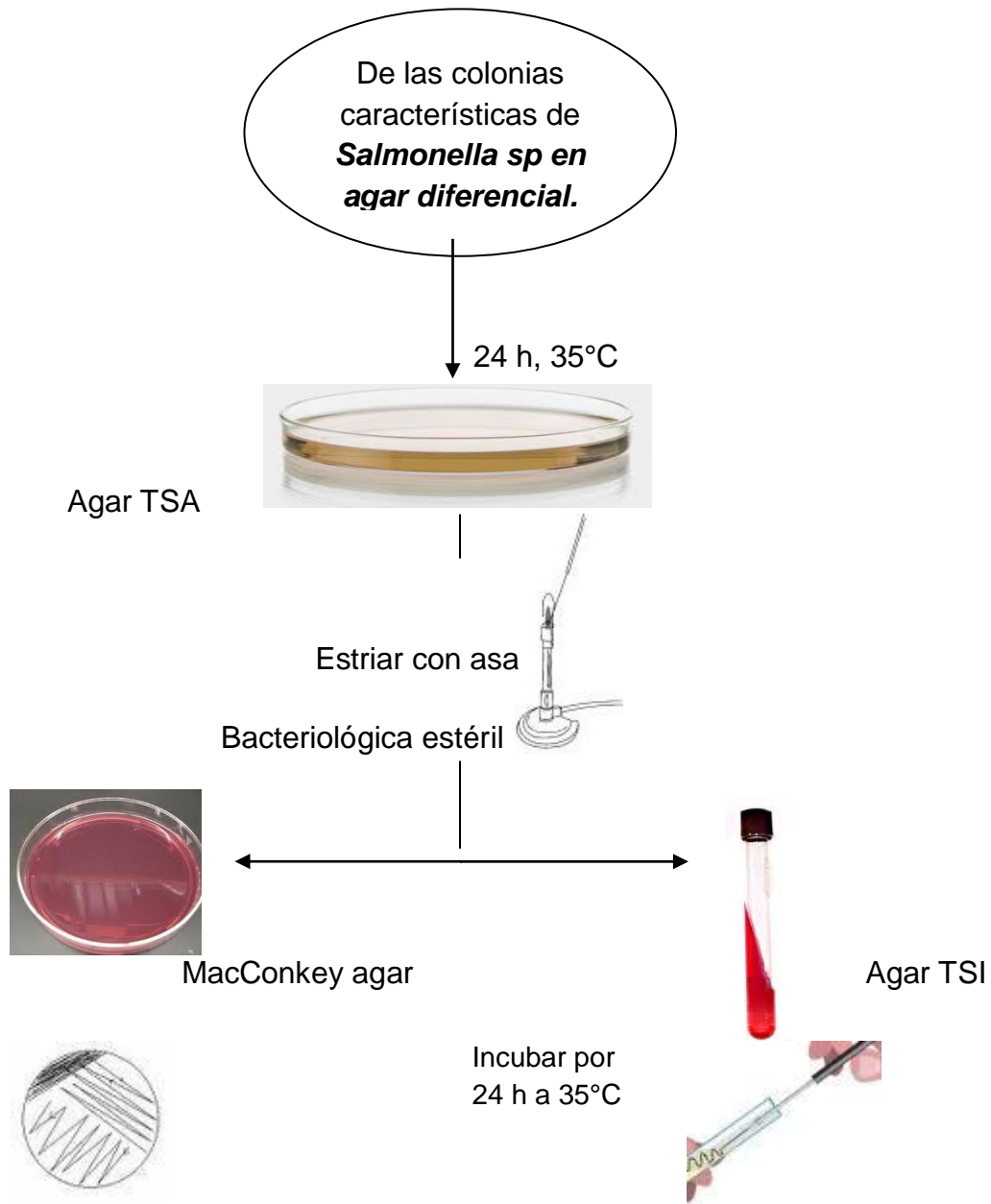


Figura N° 13. Esquema del procedimiento de purificación de bacterias presuntivas de *Salmonella sp.*

## **ANEXO N° 4**

**Método bacteriológico para aislamiento de *Salmonella sp.*<sup>(14)</sup>**

1. Medios de cultivo diferencial: Los medios EMB, de McConkey o de desoxicolato permiten detectar con rapidez los microorganismos no fermentadores de lactosa (no sólo **Salmonella** y **Shigela**, sino también *proteus*, *serratia*, *pseudomonas*, etc.). Los microorganismos gram-positivos presentan cierta inhibición. El medio con sulfuro de bismuto permite la detección rápida de la **Salmonella typhi**, la cual forma colonias de color negro debido a la producción de H<sub>2</sub>S, muchas salmonellas producen H<sub>2</sub>S.

2. Medios de cultivo selectivo: La muestra se coloca sobre agar salmonela-shigela (SS), agar entérico Hektoen, o agar de desoxicolato-citrato, las cuales favorecen el crecimiento de salmonellas y shigellas más que el de otras enterobacteriáceas.

3. Enriquecimiento de cultivo: Las muestras (habitualmente heces) también se colocan en caldo selenito o tetrationato, ambos inhiben la replicación global de las bacterias intestinales y permiten la multiplicación de las salmonellas. Después de la incubación por 1 o 2 días, se colocan sobre placas con medios diferenciales y selectivos.

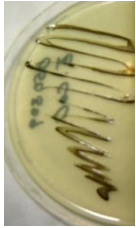
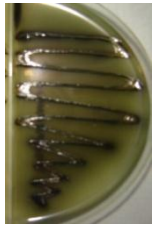



4. Identificación final: Las colonias sospechosas en los medios sólidos se identifican mediante patrones de reacción bioquímica y pruebas de aglutinación en laminilla con suero específico. <sup>(14)</sup>

**ANEXO Nº 5**

**MORFOLOGIA TIPICA DE COLONIAS DE *Salmonella sp* EN MEDIOS  
SELECTIVOS Y PURIFICACIÓN**



Cuadro N° 18: Morfología típica de colonias de *Salmonella sp* en medios selectivos y purificación. (15)

Medios de Cultivo Selectivos y de Purificación	Morfología típica de colonias de <i>Salmonella sp</i>	Reacción de especies de <i>Salmonella</i>	
		Negativo	Positivo
<b>Agar Bismuto Sulfito (BS):</b>	Colonias cafés, grises o negras con o sin brillo metálico. Muestran un incremento gradual en el ennegrecimiento (debido a H <sub>2</sub> S) del medio alrededor de la colonia al incrementar el tiempo de incubación.		
<b>Agar Hektoen entérico (HE)</b>	Colonias en coloración de azul a azul verdosa. Muchos cultivos de <i>Salmonella sp</i> . Pueden producir colonias con centro negro largo o pueden aparecer colonias completamente negras.		
<b>Agar Xilosa lisina desoxicolato (XLD):</b>	Colonias rosadas con o sin centros negros. Muchos cultivos de <i>Salmonella sp</i> . pueden producir colonias con centros largos y brillantes o pueden aparecer colonias casi completamente negras.		
<b>Agar MacConkey:</b>	Las colonias típicas de <i>Salmonella sp</i> , son lactosa negativa y aparecen como colonias incoloras sobre el medio. Las bacterias lactosa positiva aparecerán como colonias de color rosado fuerte.		

## ANEXO No. 6

### Reacciones bioquímicas de *Salmonella sp*

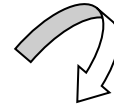
Cuadro N° 19. Reacciones bioquímicas de *Salmonella sp.* (4)

Medio	Reacción	Observación	Reacción de especies de <i>Salmonella sp</i>	
			Positivo	Negativo
Agar Hierro Tres Azúcares	Utilización de la lactosa y/o sucrosa	Pico de flauta alcalino (rosado)		
	Utilización de la glucosa	Fondo amarillo		
	Producción de H <sub>2</sub> S	Ennegrecimiento del pico y/o fondo		
	Formación de gas	Bolsas de aire en el medio		
Medio Movilidad (SIM)	Determinar si el microorganismo es móvil o inmóvil (presencia de flagelos).	enturbiamiento homogéneo del medio, con o sin ennegrecimiento		

**ANEXO N° 7**

**IDENTIFICACIÓN DE CULTIVOS AISLADOS MEDIANTE GALERIAS  
API 20E. (34)**

A partir de una colonia bien aislada, hacer una suspensión utilizando como estándar Macfarland 0.5



Llenar con la suspensión de bacteria los Tubos, no la cúpula, de todos los pocillos



Llenar la cúpula de los pocillos CIT, VP y GEL con la Suspensión bacteriana



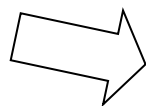
Cubrir con parafina la cúpula de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S para obtener anaerobiosis



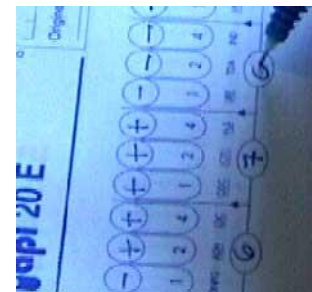
Poner la tira en su propia Cámara Húmeda de incubación



Incubar a 37°C durante 18-24h



Anotar los resultados inmediatos. Se obtendrá un perfil numérico de 7 el cual será introducido al APIWeb



## **ANEXO Nº 8**

### **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS API**

Cuadro N° 20. Reacciones API 20E BIOMERIEUX <sup>(34)</sup>

Prueba	Reacción / Enzimas	Negativo	Positivo
<b>ONPG</b>	Beta-galactosidasa	sin color	Amarillo
<b>ADH</b>	Arginina deshidrolasa	Amarillo	rojo o naranja
<b>LDC</b>	Lisina descarboxilasa	Amarillo	rojo o naranja
<b>ODC</b>	Ornitina descarboxilasa	Amarillo	rojo o naranja
<b>CIT</b>	Utilización del citrato	Verde	azul oscuro o turquesa
<b>H2S</b>	Producción de H <sub>2</sub> S	sin precipitado negro	precipitado negro
<b>URE</b>	Ureasa	Amarillo	rojo o naranja
<b>TDA</b>	Triptófano desaminasa	Amarillo	marrón-rojo
<b>IND</b>	Producción de Indol	Amarillo	color rosa o anillo rosa-rojo
<b>VP</b>	Producción de acetoina (Voges-Proskauer)	sin color	rosa-rojo
<b>GEL</b>	Gelatinasa	sin difusión	difusión de pigmento
<b>GLU</b>	Fermentación/oxidación de glucosa	azul o verde	amarillo
<b>MAN</b>	Fermentación/oxidación de manitol	azul o verde	amarillo
<b>INO</b>	Fermentación/oxidación de inositol	azul o verde	amarillo
<b>SOR</b>	Fermentación/oxidación de sorbitol	azul o verde	amarillo
<b>RHA</b>	Fermentación/oxidación de ramnosa	azul o verde	amarillo
<b>SAC</b>	Fermentación/oxidación de sacarosa	azul o verde	amarillo
<b>MEL</b>	Fermentación/oxidación de melobiosa	azul o verde	amarillo
<b>AMY</b>	Fermentación/oxidación de amigdalina	azul o verde	amarillo
<b>ARA</b>	Fermentación/oxidación de arabinosa	azul o verde	amarillo

## ANEXO N° 9

Reacciones positivas- negativas de la galería API 20 E (34)

	ONPG	ADH	URE	ODC	GLU	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEI	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	CX
Negativo																					
Positivo																					

Figura N° 14. Reacciones positivas- negativas de la galería API 20 E

## ANEXO Nº 10.

### Determinación de resistencia antimicrobiana por medio del Método de Difusión en discos. (25)

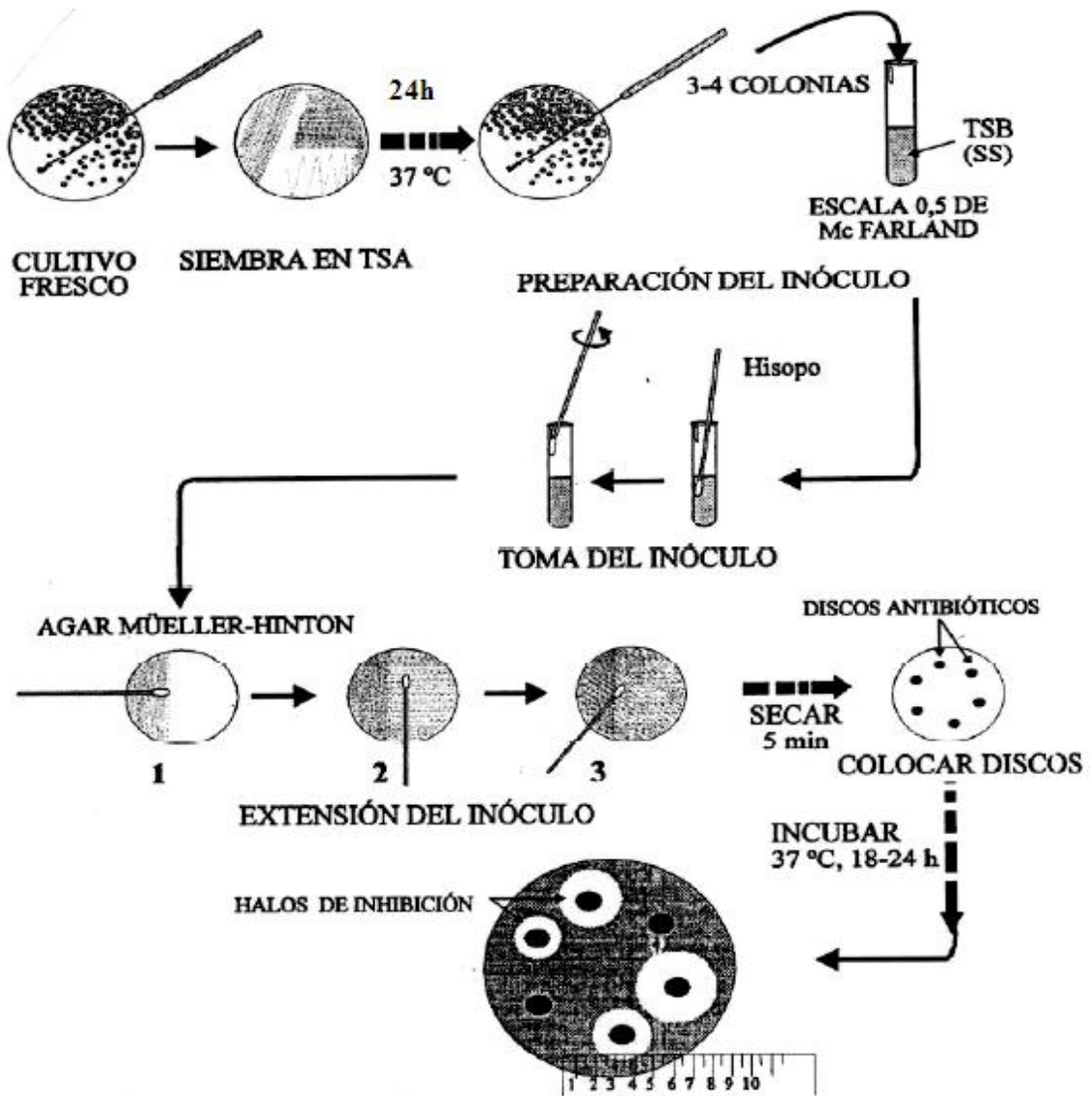


Figura Nº 15. Esquema del procedimiento para la determinación de resistencia antimicrobiana por medio del método de difusión en discos.



**ANEXO Nº 11**

**CUADRO DE INTERPRETACION DEL TAMAÑO DEL HALO, BASADO  
EN RESULTADOS OBTENIDOS USANDO AGAR MUELLER HINTON.**

Cuadro N° 21. Cuadro de interpretación del tamaño del halo. Basado en resultados obtenidos usando Agar Muller Hinton. (3)

Product code	Antimicrobial Agent	Symbol	Disc Content	Diameter of zone of inhibition in mm										
				Resistant	Intermediate	Sensitive	Quality Control Limits							
				mm or less	mm	mm or more	E. coli ATCC 25922	S. aureus ATCC 25923	P. aeruginosa ATCC 27853	E. coli ATCC 35218	H. influenzae ATCC 49247	H. influenzae ATCC 49766	S. pneumoniae ATCC 49619	N. gonorrhoeae ATCC 49226
SD035	Amikacin	Ak	30 µg	14	15-16	17	19-26	20-26	18-26	-	-	-	-	-
SD063	Amoxycilin / Clavulanic acid When testing Haemophilus spp. And Staphylococci When testing Enterobacteriaceae	Ac	20/10 µg (30µg)	19 13	- 14-17	20 18	- 18-24	28-36 -	- -	17-22 -	15-23 -	- -	- -	- -
SD002	Ampicillin When testing Enterobacteriaceae When testing Staphylococci When testing Haemophilus spp. When testing S. pneumoniae When testing Streptococcus Other than S. pneumoniae	A	10 µg	13 28 18 - 18	14-16 - 19-31 - 19-25	17 29 22 - 26	16-22 - - - -	- 27-35 - - -	- - - - -	6 - - - -	- - 13-21 - -	- - - - -	30-36 - - -	- - - -
SD112	Ampicilin / Sulbactam When testing Enterobacteriaceae and Staphylococci When testing Haemophilus spp.	As	10/ µg	11 19	12-14 -	15 20	19-24 -	29-37 -	- -	13-19 -	- 14-22	- -	- -	- -
SD110	Ceftriaxone When testing Haemophilus spp. When testing S. pneumoniae When testing Streptococcus other tha S. pneumoniae When testing N. gonorrhoeae	Ci	30 µg	13 - 24 -	14-20 - 25-26 -	21 26 27 - 35	29-35 - - - -	22-28 - - - -	17-23 - - - -	- - 31-39 - -	- - - - -	- - - - -	30-35 - - -	- - - 39-51
SD050	Cephalothin	Ch	30 µg	14	15-17	18	15-21	29-37	-	-	-	-	26-32	-
SD040	Cephotaxime When testing Haemophilus spp. When testing S. pneumoniae When testing Streptococcus other than S pneumoniae When testing N. gonorrhoeae	Ce	30 µg	14 - - 25	15-22 - 26-27 -	23 26 - 28 31	29-35 - - - -	25-31 - - - -	18-22 - - - -	- - 31-39 - -	- - - - -	- - 31-39 - -	- - - -	38-48
SD006	Chloramphenicol When testing Haemophilus spp. When testing S. pneumoniae When testing Streptococcus other than Streptococcus	C	30 µg	12 25 20 -	13-17 26-28 - 18-20	18 29 21 - 21	21-27 - - - -	19-26 - - - -	- - - - -	- - 32-40 - -	- - - - -	- - 23-27 - -	- - -	- -
SD245	Cinoxacin	Cin	100 µg	14	15-18	19	26-32	-	-	-	-	-	-	-
SD060	Ciprofloxacin When testing Haemophilus spp. When testing N. gonorrhoeae	Cf	5 µg	15 - 27	16-20 - 28-40	21 21 41	30-40 - -	22-30 - -	25-33 - -	- - -	34-42 - -	- - -	- - -	48-58
SD192	Clarithromycin When testing Streptococci When testing Staphylococci When testing Haemophilus spp.	Cw	15 µg	16 13 10	17-20 14-17 1-20	21 18 13	- - -	- 26-32 -	- - -	- - 11-17	- - 11-17	- - -	25-31 - -	- -
SD051	Clindamycin When testing Staphylococci When testing Streptococci	Cd	2 µg	14 15	15-20 16-18	21 19	- -	24-30 -	- -	- -	- -	- -	19-25	-
SD009	Colistin	Cl	10 µg	10	-	11	11-17	-	11-17	-	-	-	-	-
SD010	Co-Trimoxazole (Trimethoprim/ Sulphamethoxazole) When testing S pneumoniae	Co	1,25/ 23,75 µg	10 15	11-15 16-18	16 19	23-29 -	24-32 -	- -	- -	24-32 -	- -	- 20-28	- -
SD039	Trimethopim	Tr	5 µg	10	nov-15	16	21-28	19-26	-	-	-	-	-	-
SD045	Vancomycin When testing Staphylococci When testing Streptococci	Va	30 µg	- -	- -	15 17	- -	17-21 -	- -	- -	- -	- -	20-27	- -

**ANEXO Nº 12**

**PREPARACION DEL ESTANDAR McFARLAND 0.5 <sup>(11)</sup>**

Los estándares de McFarland se preparan agregándole Cloruro de Bario a una solución de ácido Sulfúrico para obtener un precipitado de Sulfato de Bario. Se puede preparar estándares con varios grados de turbidez, ajustando los volúmenes de ambos reactivos, lo que representa distintas concentraciones de bacterias. El estándar usado más comúnmente en el laboratorio de microbiología para los métodos de sensibilidad de rutina es el 0.5; el cual representa  $1.5 \times 10^8$  bacterias por mL

#### **A. Reactivos**

- Acido Sulfúrico 1%
  - Agregar 90 mL de agua destilada a un frasco graduado de 100 mL
  - Con un pipeta agregar 1 mL de Acido Sulfúrico concentrado
  - Llevar a volumen con agua destilada.
- Cloruro de Bario 1% (p/v)
  - Pesar 1,0 de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en un beaker
  - Agregar 50 mL de agua destilada y mezclar hasta disolver
  - Transferir a un balón volumétrico de 100 mL y llevarlo a volumen con agua destilada.

## **B. Procedimiento**

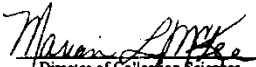
- Agregar aproximadamente 8.5 mL de Acido Sulfúrico a un frasco graduado de 10 mL.
- Con una pipeta de 0.5 mL agregar 0.5 de  $\text{BaCl}_2$  al 1% gota a gota al Acido Sulfúrico manteniendo una agitación constante
- Llevar a 10 mL de volumen con Acido Sulfúrico
- Agitar con agitador magnético por 3 a 5 minutos
- Examinar la solución visualmente para asegurarse de que sea homogénea sin precipitados visibles

**ANEXO Nº 13**

**CERTIFICADO CEPA ATCC**

**ATCC NUMBER:** 10708**ORGANISM:** *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serovar *Choleraesuis***LOT:** 3552945**EXPIRATION DATE:** 2012-06**PRODUCT DESCRIPTION:** Bacterial cells suspended in an appropriate cryoprotectant.**STORAGE:** +2° to -8° C, for freeze-dried cultures  
-20°C or lower for frozen cultures**Note:** Do not store in freezers with a defrost cycle. This will expose the vials to increased temperatures. -80 C or vapor-phase liquid nitrogen (-196 C) is preferred for long-term storage, more than one month.**QUALITY REQUIREMENTS:****Viability:** Material in a sufficient sample of the lot, rehydrated according to standard procedures, was cultured and found viable on recommended medium at recommended temperature.**Purity:** Cultures on liquid and solid media were examined for, and found free of, visible contamination.**Identity:** Culture appearance and microscopic characters were compared to a species description and illustrations (if available).**Content:** Cultures were evaluated for adequate yield of viable material.

All results passed ATCC specifications.

  
Director of Collection Sciences**Date:** February 27, 2004

ATCC hereby represents and warrants that the material provided under this certificate has been subjected to the tests and procedures specified and that the results described, along with any other data provided in this certificate, are true and correct to the best of ATCC's knowledge and belief.

© ATCC, 2003. All rights reserved.

ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans.

**American Type Culture Collection**  
P.O. Box 1549  
Manassas, VA 20108 USA  
[www.atcc.org](http://www.atcc.org)800-638-6597 or 703-365-2700  
Fax: 703-365-2750  
E-mail: [tech@atcc.org](mailto:tech@atcc.org)  
Or contact your local distributor.

**ANEXO Nº 14**

**RESULTADOS DEL PROCESO DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN  
DE *Salmonella sp.***





Figura Nº 17. Muestras de chorizo previamente pesadas y listas para incubación. Etapa de pre-enriquecimiento.

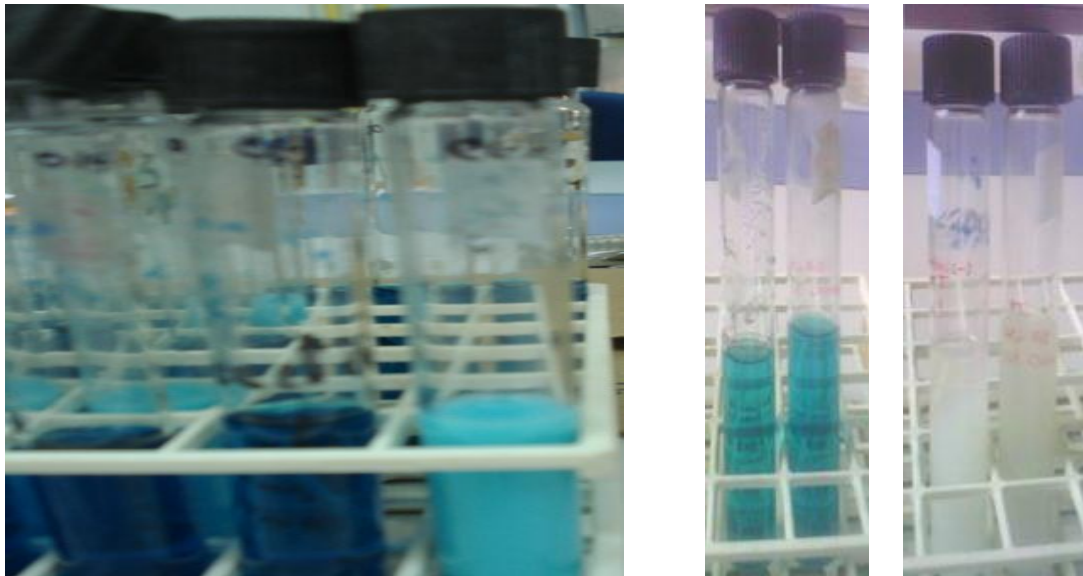


Figura Nº 18. Controles negativos de lote de los caldos Rappaport y Tetratonato. Etapa de Enriquecimiento Selectivo



Figura N° 19. Muestras en proceso, pase de etapa de pre-enriquecimiento (Caldo lactosado incubado a 35°C) a etapa de Enriquecimiento selectivo.

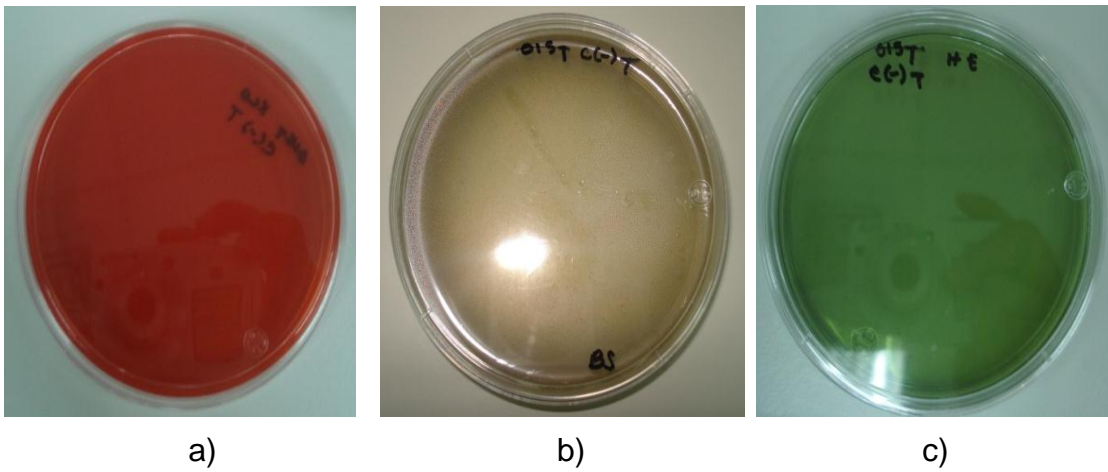


Figura N° 20. Controles negativos de lotes de los Agar: a) XLD, b) BS y c) HEKTOEN, luego de Incubación a 35°C por 24 hrs.

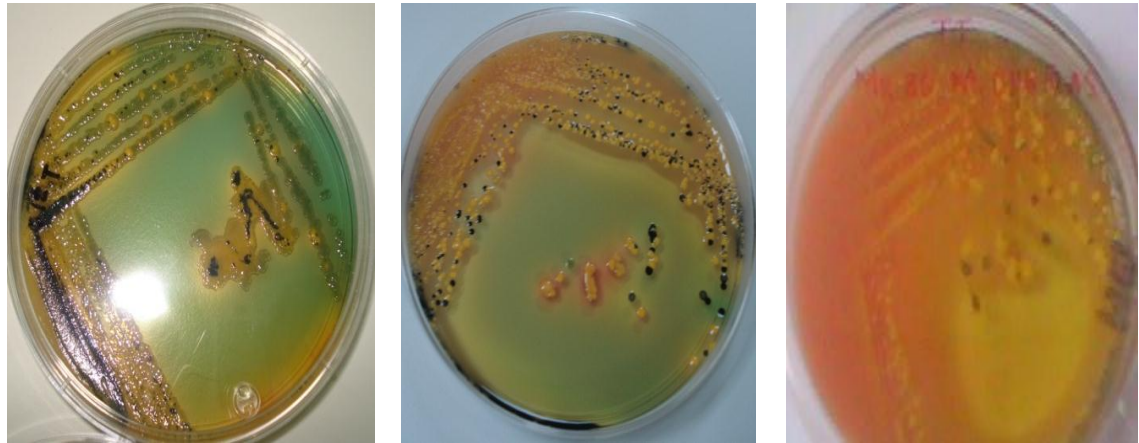


Figura N° 21. Etapa de aislamiento en medio diferencial Hektoen, luego de Incubación a 35°C por 24 hrs. Presencia de cultivos mixtos, colonias características de **Salmonella sp**: colonias verdes con o sin centro negro.

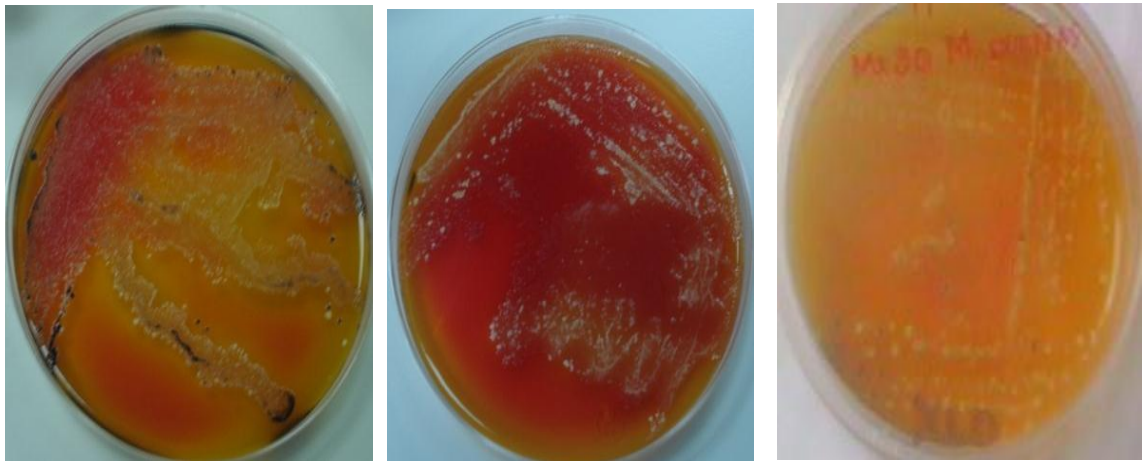


Figura N° 22. Etapa de aislamiento en medio diferencial XLD, luego de Incubación a 35°C por 24 hrs. Presencia de cultivos mixtos, colonias características de **Salmonella sp**: colonias incoloras con o sin centro negro.

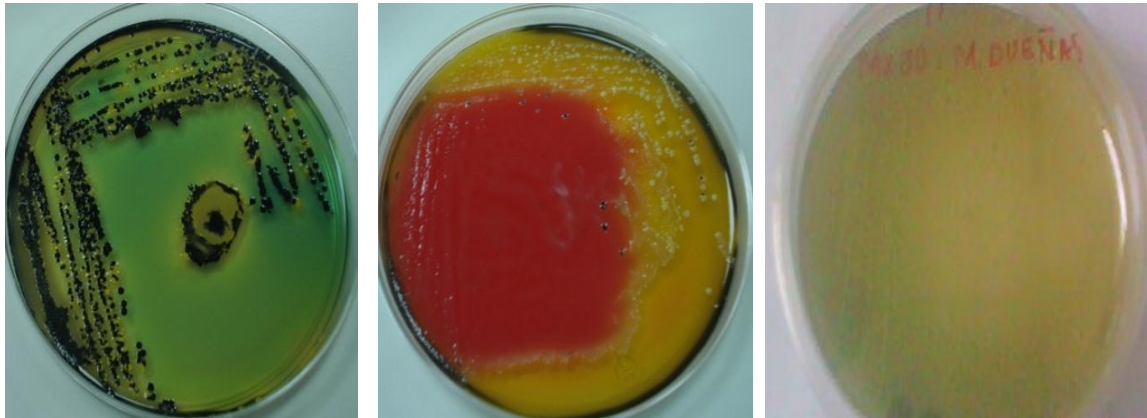


Figura N° 23. Etapa de aislamiento en medio diferencial Hektoen y XLD luego de Incubación a 35°C por 24 hrs. Presencia de cultivos mixtos.

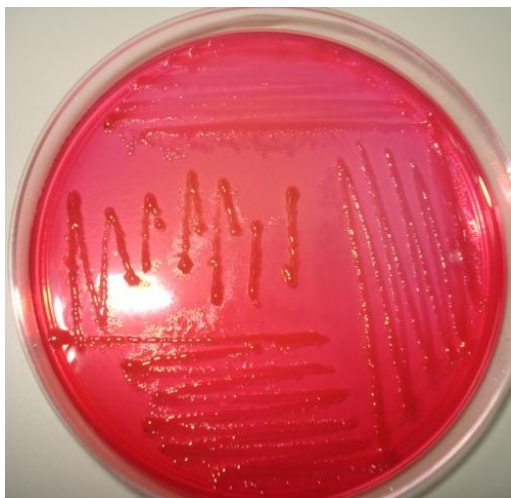


Figura N° 24. Placa de McConkey, presencia típica de bacterias gram positiva, etapa de purificación.

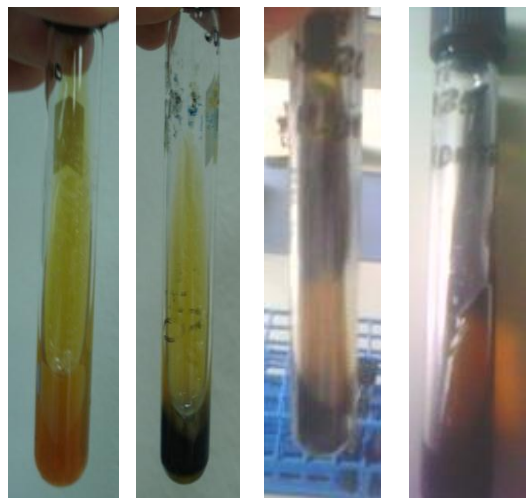


Figura N° 25. Tubos de TSI, con ausencia típica de *Salmonella sp*, etapa de identificación por pruebas bioquímicas.



Figura N° 26. Placa con presencia típica de **Salmonella sp**, etapa de aislamiento en medio diferencial.



Figura N° 27. Placas de McConkey, etapa de purificación de Bacterias.

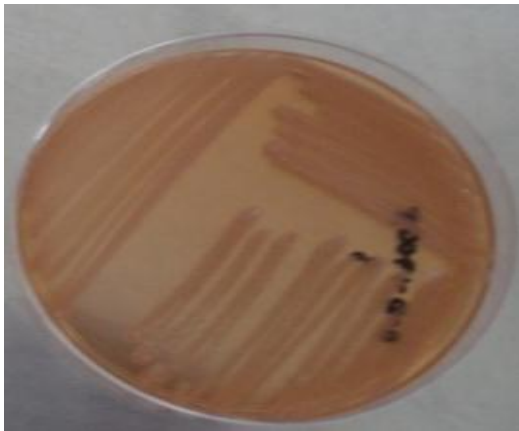


Figura N° 28. Placa de McConkey, presencia típica de **Salmonella sp**; colonias incoloras, etapa de purificación.

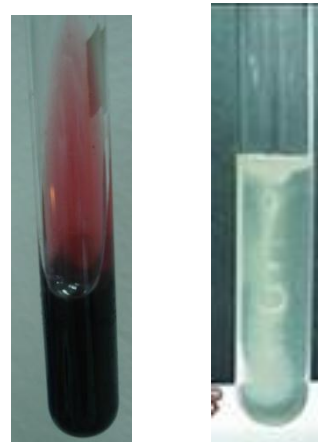


Figura N° 29. Tubos de motilidad y TSI, con presencia típica de **Salmonella sp**, etapa de identificación por pruebas bioquímicas.



Figura N° 30. Galerías API luego de 24 h de incubación a 35°C con ***Salmonella sp*** presuntivas.



api® 20 E

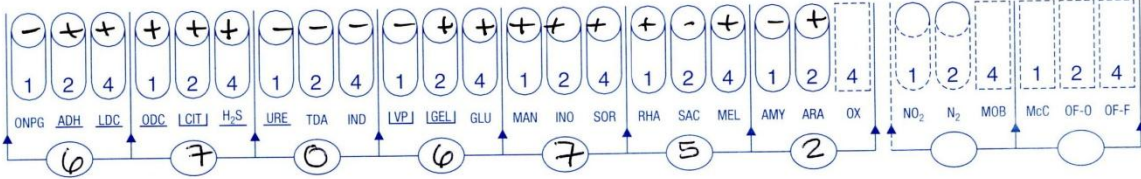


07223 C

REF : 012

2010/18/11

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :



Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :  
*Salmonella spp*

api® 20 E

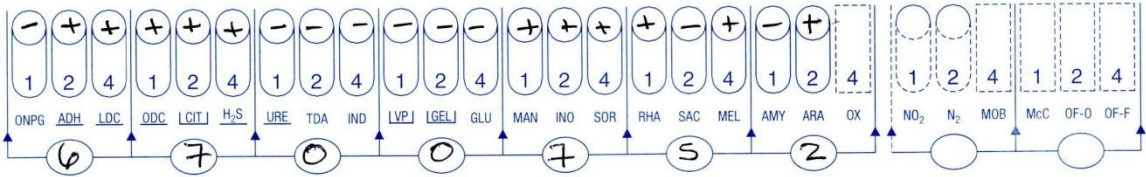


07223 C

REF : 0B

2010/18/11

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :



Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :  
*Salmonella spp*

api® 20 E

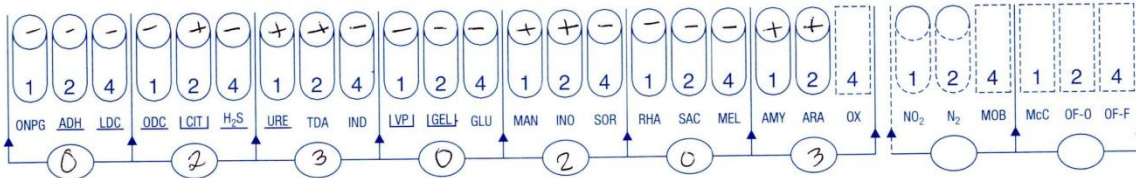


07223 C

REF : 018

2010/10/11

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :



Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :  
*Providencia rettgeri*

Figura N° 31. Hojas de perfil de identificación para muestras presuntivas de *Salmonella sp.* analizadas por API 20E



## ANEXO Nº 16

### Perfiles de identificación API 20 E de muestras analizadas

**API 20 E V4.1** [Impresora](#) [Exportar](#) [Nuevo test](#) [Modificar](#)

REFERENCIA:  FECHA: 10/11/10  
 COMENTARIO:

**EXCELENTE IDENTIFICACION**

Galería	API 20 E V4.1		
Perfil	6 7 0 4 7 5 2		
Nota	CONFIRMAR POR PRUEBAS SEROLOGICAS		

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Salmonella spp	99.9	0.97				

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Salmonella choleraesuis ssp arizonae	0.1	0.25	ONPG 98%	INO	0%	

---

**API 20 E V4.1** [Impresora](#) [Exportar](#) [Nuevo test](#) [Modificar](#)

REFERENCIA:  FECHA: 18/11/10  
 COMENTARIO:

**MUY BUENA IDENTIFICACION**

Galería	API 20 E V4.1		
Perfil	6 7 0 6 7 5 2		
Nota	CONFIRMAR POR PRUEBAS SEROLOGICAS		

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Salmonella spp	99.9	0.65	GEL 1%			

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Salmonella choleraesuis ssp arizonae	0.1	0.0	ONPG 98%	GEL 0%	INO 0%	

Figura Nº 32. Perfiles de identificación API 20E de muestras analizadas.

**ANEXO Nº17**

**RESULTADOS DE MUESTRAS ANALIZADAS POR METODO KIRBY-  
BAUER.**

Cuadro N° 22. Resultados de los diámetros en mm obtenidos en la prueba de difusión en discos (Kirby Bauer).

Muestra	Antibiótico				
	Ampicilina 10 µg	Ciprofloxacina 5 µg	Trimetropin- Sulfametoxazol 25 µg	Ceftriaxona 30 µg	Cloranfenicol 30 µg
Muestra 4	5 mm	27 mm	19 mm	19 mm	28 mm
	5 mm	28 mm	20 mm	18 mm	27 mm
	5 mm	27 mm	20 mm	21 mm	26 mm
	5 mm	26 mm	19 mm	20 mm	27 mm
Muestra 12	5 mm	33 mm	14 mm	23 mm	24 mm
	5 mm	31 mm	14 mm	21 mm	24 mm
	5 mm	31 mm	12 mm	18 mm	24 mm
	5 mm	29 mm	11 mm	24 mm	24 mm
Muestra 13	5 mm	25 mm	8 mm	19 mm	27 mm
	5 mm	26 mm	8 mm	19 mm	26 mm
	5 mm	25 mm	8 mm	20 mm	27 mm
	5 mm	25 mm	8 mm	21 mm	27 mm
Muestra 19	5 mm	29 mm	12 mm	21 mm	23 mm
	5 mm	29 mm	12 mm	20 mm	24 mm
	5 mm	31 mm	11 mm	20 mm	25 mm
	5 mm	30 mm	11 mm	20 mm	24 mm
Cepa ATCC	10 mm	34 mm	16 mm	24 mm	27 mm
	10 mm	34 mm	18 mm	23 mm	30 mm
	9 mm	32 mm	16 mm	23 mm	31 mm
	8 mm	33 mm	16 mm	23 mm	31 mm



Figura N° 33. Placa con Cepa ATCC examinada ante el antibiótico Ciprofloxacina.

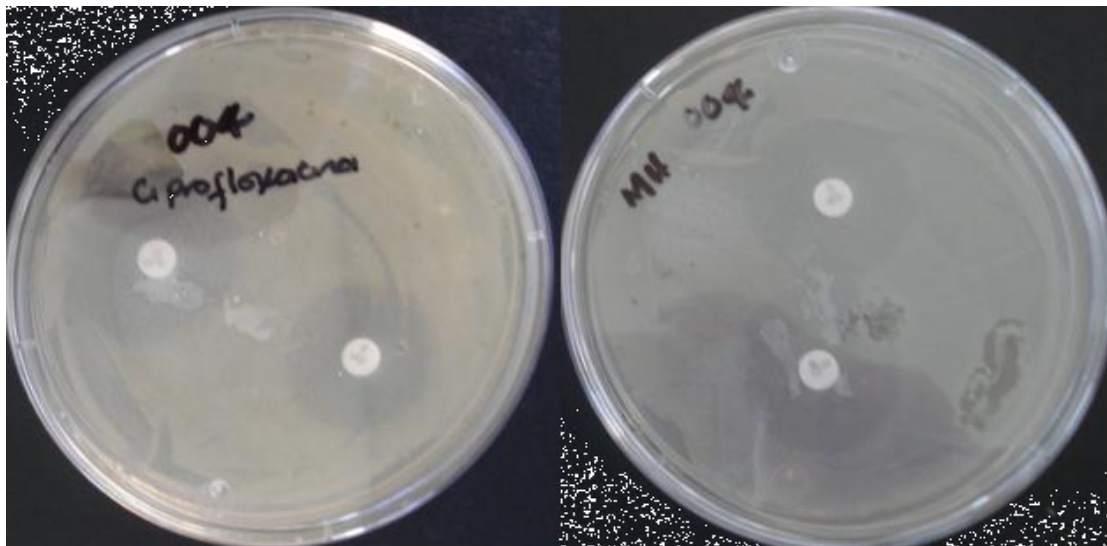


Figura N° 34. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 004, examinada ante el antibiótico Ciprofloxacina.

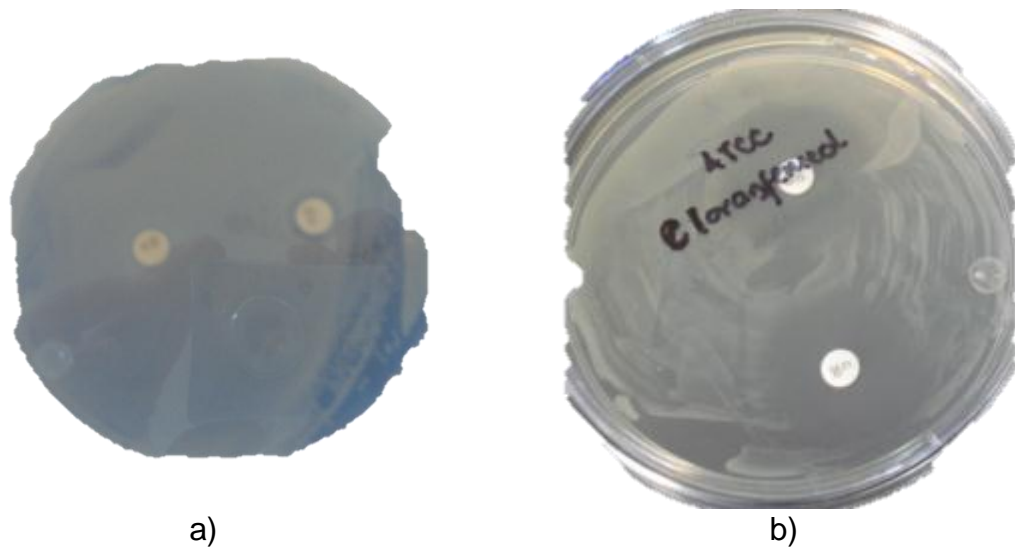


Figura N° 35. Placas con Cepa ATCC examinadas ante los antibióticos: a) Ampicilina, b) Cloranfenicol.

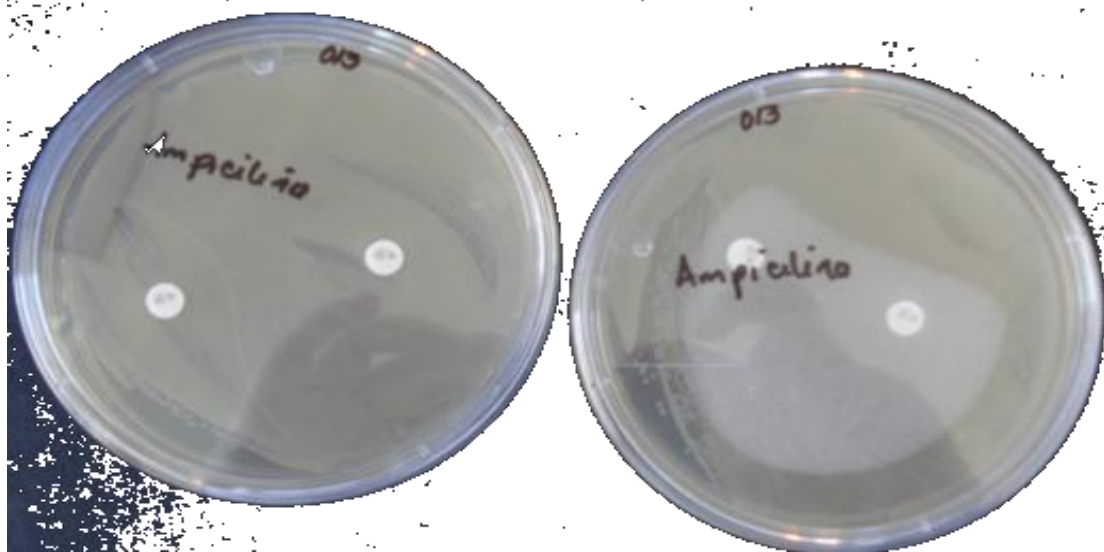


Figura N° 36. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 013, examinada ante el antibiótico Ampicilina.

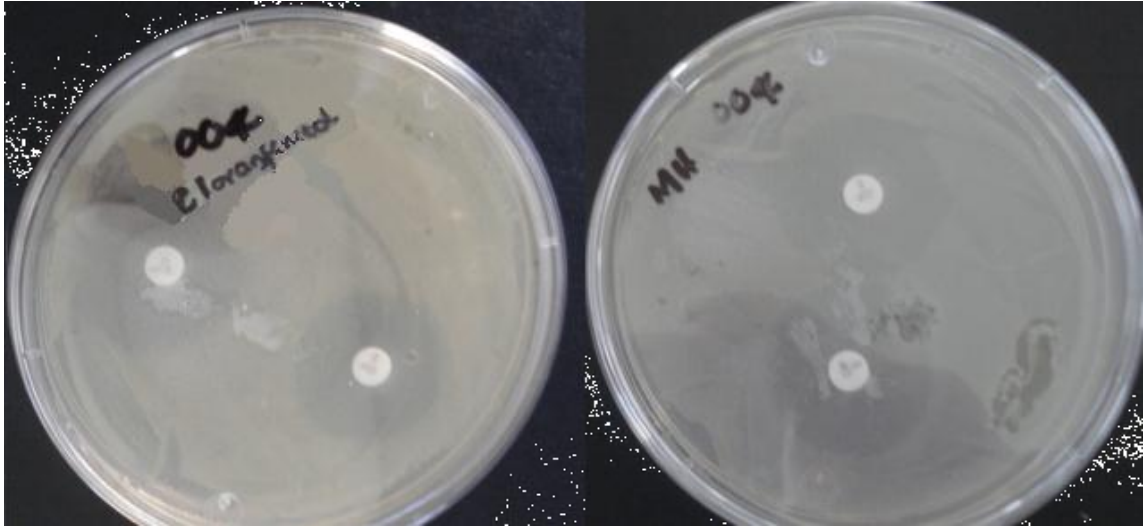


Figura N° 37. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 004, examinada ante el antibiótico Cloranfenicol.



Figura N° 38. Placa con Cepa ATCC examinada ante el antibiótico Trimetropin-Sulfametoxazol



Figura N° 39. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 012, examinada ante el antibiótico Trimetropin- Sulfametoxazol

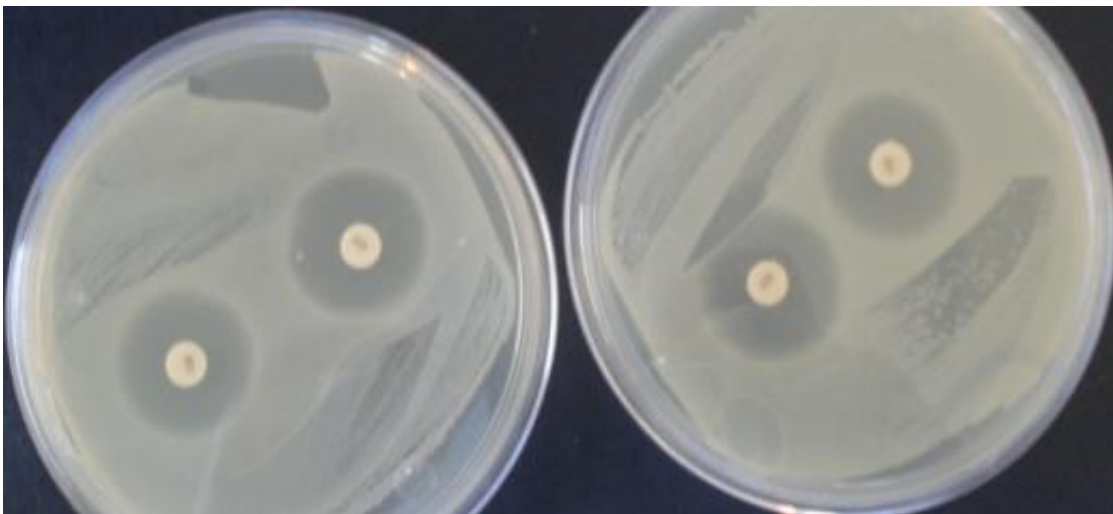


Figura N° 40. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 004, examinada ante el antibiótico Trimetropin- Sulfametoxazol

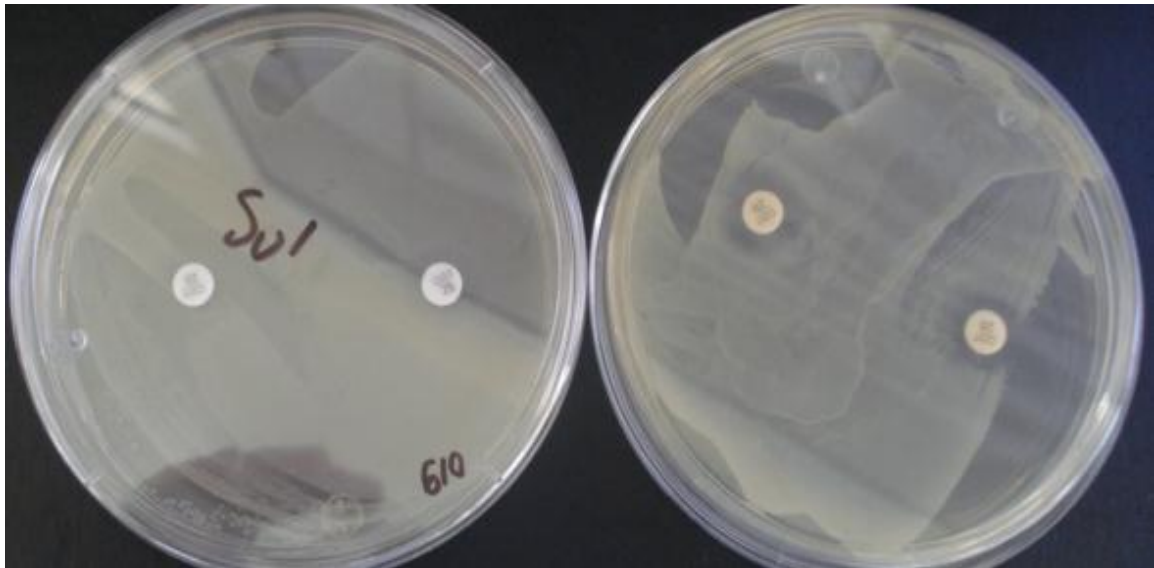


Figura N° 41. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 019, examinada ante el antibiótico Trimetropin- Sulfametoxazol

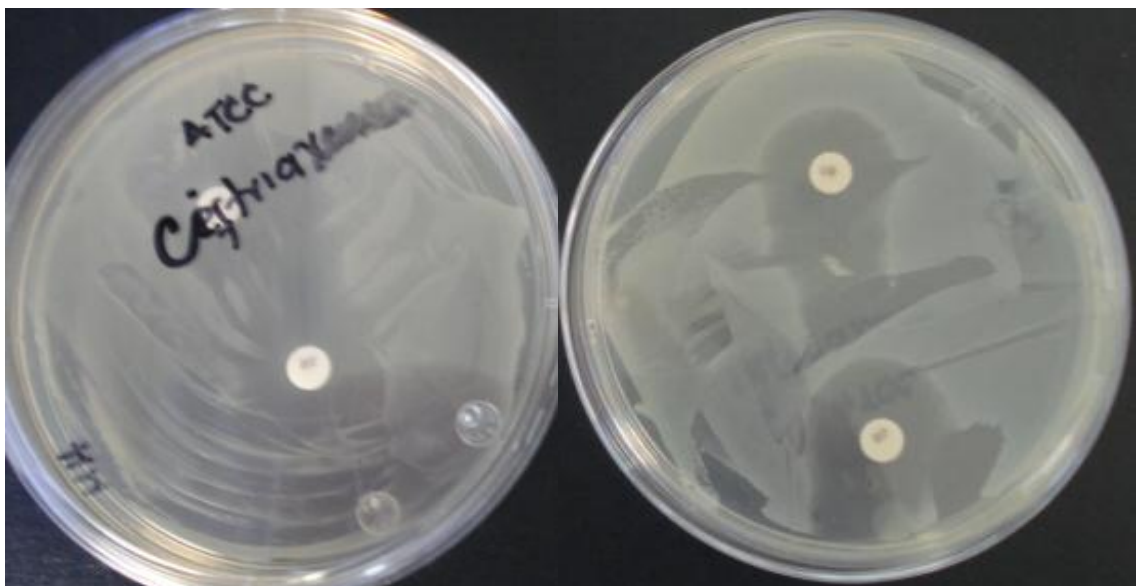


Figura N° 42. Placa con Cepa ATCC examinada ante el antibiótico Ceftriaxona



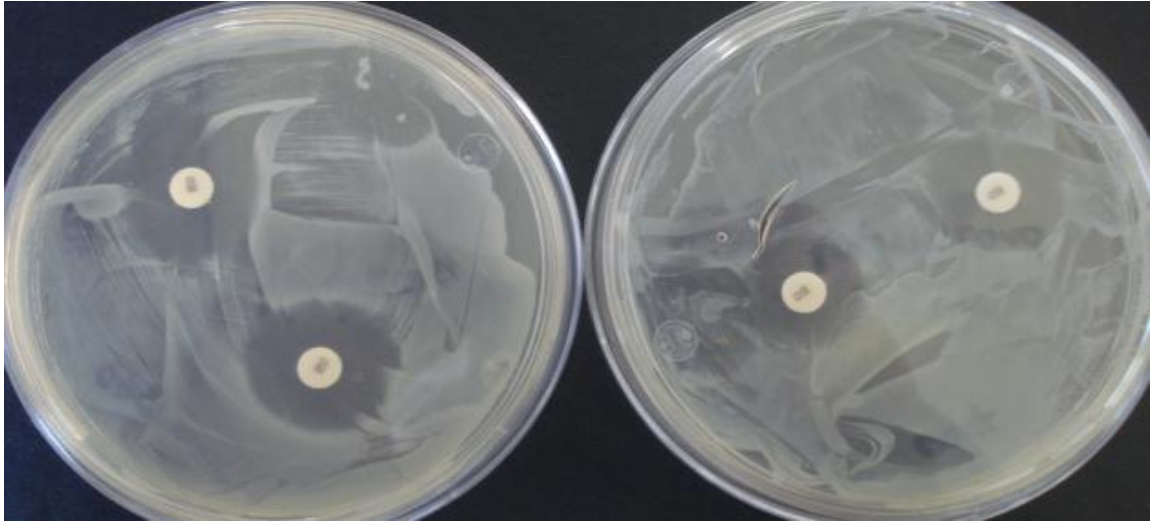


Figura N° 43. Placa con cultivo salvaje aislado de la muestras 004, examinada ante el antibiótico Ceftriaxona