

**DETERMINACIÓN DE PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA PARA
Salmonella spp, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*,
Enterococcus spp EN LA CADENA PRODUCTIVA AVÍCOLA: ABUELAS,
REPRODUCTORAS Y POLLO DE ENGORDE.**

ANA ROSA PUENTES MARTÍNEZ

**Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de
Magister en Ciencias Pecuarias**

**Director
PILAR DONADO GODOY
PhD en Philosophy**

**UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRIA EN CIENCIAS PECUARIAS
IBAGUÉ-TOLIMA
2017**



UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ACTA No. 002

Fecha: 17 de Abril de 2018

**ACTA SUSTENTACIÓN TESIS DE
GRADO**

Página 1 de 1

TESIS DE GRADO DIRIGIDA

Siendo las 14:00 horas del día martes 17 de abril de 2018, se reunieron en la sala de juntas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad del Tolima, los jurados calificadoros integrados por los doctores **Iang Schroniltgen Rondón Barragán** y **Néstor Alfonso Mossos Campos** (video llamada), la directora de Tesis por video llama doctora **Pilar Donado Godoy**, para dar su concepto sobre la Tesis de Grado, presentada por la estudiante de la Maestría en Ciencias Pecuarias Énfasis en Avicultura **Ana Rosa Puentes Martínez**.

Titulada: "DETERMINACIÓN DE PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA PARA *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Listeria monocitogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp* EN LA CADENA PRODUCTIVA AVÍCOLA: ABUELAS, REPRODUCTORAS Y POLLO DE ENGORDE"

Luego de las correcciones y deliberaciones, el jurado asignó la calificación de

4,8 (cuatro punto ocho)

Para constancia se firma:

IANG SCHRONILTGEN RONDÓN BARRAGÁN
JURADO

NÉSTOR ALFONSO MOSSOS CAMPOS
JURADO

PILAR DONADO GODOY
DIRECTORA

LINA MARIA PEÑUELA SIERRA
CORDINADORA MAESTRIA

DEDICATORIA

Con todo mi amor a:

Mi hija Laura Alejandra

Mi esposo Alejandro

Mis padres (q.e.p.d)

Mis hermanos

Mis Sobrinos

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a mi directora de tesis, Dra. Pilar Donado Godoy por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado que pueda culminar el presente proyecto con éxito.

Al Dr. Cesar A. Camargo Salamanca por brindar todo el apoyo necesario para el desarrollo del proyecto de igual forma a los doctores: Carlos Ardila, Mauricio Sanabria y German Vergara y a todo el personal directivo y operario dentro de la compañía Incubacol S.A.S.

Un agradecimiento muy especial a Alejandra Arevalo, Mari Luz Leon, Johan Bernal por todo su apoyo técnico en el análisis de las muestras y a todas las personas del programa Colombiano para la Investigación y Vigilancia Integrada de la Resistencia Antimicrobiana (COIPARS) que de una u otra forma participaron en el proyecto.

Gracias a Corpoica por la financiación y de las actividades relacionadas con este proyecto de investigación, gracias por proporcionarme las instalaciones, reactivos y equipos que facilitaron mi investigación.

A la Universidad del Tolima especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria por todos los conocimientos aportados durante el desarrollo de la maestría.

Un agradecimiento muy especial a mi madre (q.e.p.d) quien siempre fue mi apoyo incondicional y aunque hoy no está aquí sé que donde se encuentre siempre va a tener una sonrisa y una felicitación por cada meta que culmino.

A mi esposo, a mi hija, por su paciencia y comprensión durante el tiempo que duro la maestría ya que es un tiempo robado a ellos. Sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y por eso, este trabajo es también el suyo.

Un trabajo de investigación es fruto del reconocimiento y del apoyo vital de las personas que nos apoyan sin las cuales no tendríamos la energía para culminarla. Pero sobre todo gracias a Dios a mi familia y amigos que me apoyaron durante todo el desarrollo de los estudios de maestría.

“Uno recuerda con aprecio a sus maestros brillantes, pero con gratitud a aquellos que tocaron nuestros sentimiento” Carl Gustav Jung

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 15 |
| 1. OBJETIVOS | 19 |
| 1.1. GENERAL | 19 |
| 1.2. ESPECÍFICOS | 19 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 20 |
| 3. MARCO TEÓRICO | 22 |
| 3.1. MARCO REFERENCIAL | 22 |
| 3.1.1. Procesos de producción avícola | 22 |
| 3.1.2. Resistencia antimicrobiana | 25 |
| 3.1.3. <i>Salmonella spp.</i> | 28 |
| 3.1.4. <i>Campylobacter spp.</i> | 31 |
| 3.1.5. <i>Listeria monocytogenes</i> | 34 |
| 3.1.6. <i>Escherichia coli</i> | 34 |
| 3.1.7. <i>Enterococcus spp.</i> | 37 |
| 3.2. MARCO CONTEXTUAL | 41 |
| 3.3. MARCO LEGAL | 45 |
| 4. HIPÓTESIS | 46 |
| 4.1. HO | 46 |
| 4.2. H1 | 46 |
| 5. IMPACTOS DEL PROYECTO | 47 |
| 5.1. IMPACTO EN EL CONOCIMIENTO EN EL CAMPO DE ESTUDIO | 47 |
| 5.2. IMPACTOS REGIONALES | 47 |

| | | |
|---------------|--|-----------|
| 5.3. | IMPACTO EN POLÍTICAS PUBLICAS | 48 |
| 5.4. | IMPACTO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LA COMPETITIVIDAD | 48 |
| 5.5. | IMPACTO EN EL AMBIENTE Y LA SOCIEDAD | 49 |
| 6. | MATERIALES Y MÉTODOS | 51 |
| 6.1. | TIPO DE ESTUDIO | 51 |
| 6.2. | SITIO DE ESTUDIO | 51 |
| 6.3. | PROCEDIMIENTO DE MUESTREO | 52 |
| 6.4. | TRANSPORTE Y REMISIÓN DEL MUESTREO | 54 |
| 6.5. | RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN | 54 |
| 6.6. | CONSIDERACIONES ÉTICAS | 55 |
| 6.7. | MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL ALCANCE DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 56 |
| 6.7.1. | Objetivo 1. | 56 |
| 6.7.2. | Objetivo 2. | 62 |
| 6.7.3. | Objetivo 3. | 64 |
| 6.7.4. | Objetivo 4. | 65 |
| 7. | RESULTADOS | 66 |
| 7.1. | OBJETIVO 1 | 66 |
| 7.2. | OBJETIVO 2 | 75 |
| 7.3. | OBJETIVO 3 | 78 |
| 7.4. | OBJETIVO 4 | 79 |
| 8. | DISCUSIÓN | 81 |
| 9. | CONCLUSIONES | 88 |
| | RECOMENDACIONES | 90 |

REFERENCIAS

91

ANEXOS

102

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Número de muestras tomadas y porcentaje de acuerdo al eslabón de la cadena avícola | 66 |
| Tabla 2. Resultados de positividad de las bacterias recuperadas en la cadena avícola. | 67 |
| Tabla 3. Distribución de los aislamientos de bacterias patógenas en los diferentes eslabones de la cadena avícola. | 68 |
| Tabla 4. Serotipificación de <i>Salmonella spp.</i> de acuerdo a cada eslabón a la cadena avícola. | 69 |
| Tabla 5. Distribución de los aislamientos de <i>Campylobacter spp.</i> en la cadena avícola. | 69 |
| Tabla 6. Distribución de la recuperación de <i>Escherichia coli</i> en todos los eslabones de la cadena avícola. | 70 |
| Tabla 7. Distribución de la recuperación de <i>Enterococcus spp.</i> en los diferentes eslabones de la cadena avícola. | 71 |
| Tabla 8. Distribución de patrones de resistencia antimicrobiana para serotipos de <i>Salmonella spp.</i> | 72 |
| Tabla 9. Resistencia antimicrobiana a <i>Campylobacter spp.</i> | 73 |
| Tabla 10. Resistencia antimicrobiana de los aislamientos obtenidos de <i>Enterococcus spp.</i> , <i>E. faecalis</i> y <i>E. faecium</i> . | 74 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Procesos productivos generales de las granjas avícolas | 23 |
| Figura 2. Etapas de la detección de bacterias patógenas | 57 |
| Figura 3. Resistencia a los antimicrobianos (ResAm) de los aislamientos de <i>Salmonella spp.</i> | 72 |
| Figura 4. Perfiles de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de <i>Escherichia coli</i> (n=76). | 75 |
| Figura 5. Dendrograma de los patrones de PFGE realizado mediante CHEF DR-III aplicando el coeficiente de similitud de Dice a los aislamientos de <i>Salmonella spp.</i> | 76 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo A. Protocolo de aislamiento e identificación de <i>Salmonella spp.</i> | 103 |
| Anexo B. Protocolo de aislamiento e identificación de <i>Campylobacter spp.</i> | 104 |
| Anexo C. protocolo de aislamiento e identificación de <i>Listeria monocytogenes.</i> | 105 |
| Anexo D. Protocolo de aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli.</i> | 106 |
| Anexo E. Protocolo de aislamiento e identificación de <i>Enterococcus spp.</i> | 107 |
| Anexo F. Acta de compromiso | 108 |
| Anexo G. Encuesta realizada a granjas. | 110 |

RESUMEN

El presente estudio permitió determinar los perfiles de resistencia antimicrobiana en la cadena productiva avícola desde abuelas a punto de venta; a través de un estudio longitudinal que incluyó 250 muestras en todos los eslabones de la cadena avícola. Se encontraron *Salmonella spp* 4,8%, *Campylobacter spp* 5,2%, *Listeria monocytogenes* 0% *Enterococcus spp* 48% y *Escherichia coli* 30,4%. Los aislamientos de *Salmonella* fueron clasificados por serotipificación obteniendo *S. Heidelberg* (n=6), *S. Typhimurium* (n=3), *S. Brezany* (n=2) y del grupo II (n=1).

Igualmente como bacterias indicadoras para la resistencia antimicrobiana (ResAm) se analizaron *Escherichia coli* para las bacterias gram negativa y *Enterococcus spp.* para gram positivos.

El estudio reportó una alta resistencia a múltiples antibióticos en los aislamientos encontrados. Setenta y dos por ciento de los aislamientos de *Salmonella spp.* presentaron resistencia a ácido nalidíxico, ciprofloxacina, estreptomina y nitrofurantoina. *Campylobacter spp.* presentó resistencia a ácido nalidíxico del 88,2%. *Enterococcus spp* presentó resistencia a trimetropim sulfato (72%) y a la tetraciclina (70%). *Escherichia coli* dio una resistencia al linezolid (100%) y a trimetropim sulfato (88,67%). No se obtuvieron aislamientos de *Listeria monocytogenes*.

Esta investigación concuerda con hallazgos anteriores de estudios y reafirma la necesidad de implementar un programa integrado para el monitoreo de la resistencia antimicrobiana en las cadenas de producción animal.

Palabras claves: *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, Resistencia antimicrobiana.

ABSTRACT

The present study determined the profiles of antimicrobial resistance in the poultry production chain from grandmothers to point of sale; through a longitudinal study that included 250 samples in all the links of the poultry chain. *Salmonella* spp 4.8%, *Campylobacter* spp 5.2%, *Listeria monocytogenes* 0% *Enterococcus* spp 48% and *Escherichia coli* 30.4% were found. The isolates of *Salmonella* were classified by serotyping obtaining *S. Heidelberg* (n=6), *S. Typhimurium* (n=3), *S. Brezany* (n=2) and group II (n=1).

Also, as indicator bacteria for antimicrobial resistance (ResAm), *Escherichia coli* was analyzed for gram-negative bacteria and *Enterococcus* spp. for gram positive.

The study reported a high resistance to multiple antibiotics in the isolates found. Seventy-two percent of isolates of *Salmonella* spp. They have resistance to nalidixic acid, ciprofloxacin, streptomycin and nitrofurantoin. *Campylobacter* spp. Present resistance to nalidixic acid of 88.2%. *Enterococcus* spp showed resistance to trimetropim sulfa (72%) and to tetracycline (70%). *Escherichia coli* gave resistance to linezolid (100%) and trimetropim sulfa (88.67%). For *Listeria monocytogenes* isolates were not obtained.

It is confirming the previous findings of studies and reaffirms the need to implement an integrated program for the monitoring of antimicrobial resistance in animal production chains.

Keywords: *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp, Antimicrobial resistance.

INTRODUCCIÓN

El uso de agentes antimicrobianos en humanos y animales ha dado lugar al desarrollo de la resistencia antimicrobiana (AMR), siendo uno de los problemas de salud pública más importantes, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la mayoría de los fármacos que se están desarrollando son modificaciones de los antibióticos existentes que ofrecen soluciones a corto plazo. Según el informe 2050 emitido por la OMS es tanto el aumento de AMR a nivel mundial que muchas de las enfermedades infecciosas volverán a ser intratables y se convertirán en emergentes (OMS, 2015).

El aumento en el desarrollo de la industria de producción animal en Colombia ha aumentado esta problemática por el mayor uso de antimicrobianos en todos los eslabones de la cadena primaria ya sea como control de problemas sanitarios o promotores de crecimiento. La OMS elabora una lista actualizada de todos los antimicrobianos utilizados en medicina humana y que en su mayoría son utilizados en medicina veterinaria, para garantizar que todos los antimicrobianos de importancia crítica sean utilizados con prudencia en las dos áreas humana y veterinaria (OMS, 2015).

El pollo se considera un alimento de alto riesgo por sus características fisicoquímicas (pH cercano a la neutralidad, actividad de agua alta, y alto contenido de proteínas y grasas), lo que permite que su superficie se contamine con diversos microorganismos, incluidos patógenos como *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, los cuales pueden causar enfermedades en los consumidores (Mercado, et al., 2012).

En Colombia, se notifican al Sistema de vigilancia en salud pública (SIVIGILA) anualmente alrededor de 10.000 casos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), los cuales han aumentado en los últimos años (INS, 2010). Para el año 2010 se

reportaron 161 casos de mortalidad por Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) de origen bacteriano en menores de 5 años (INS, 2011), siendo *Salmonella* sp. uno de los principales responsables de esta patología en niños. Durante el año 2015, el SIVIGILA reporto 317 casos de fiebre tifoidea y paratifoidea mostrando un aumento de 4,6% respecto al año 2014 y 167 por ETA mostrando una disminución del 29,5% con respecto al año 2014 (INS, 2015).

Salmonella spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. son importantes agentes etiológicos de las ETAs que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, sus reservorios principales son los animales ya sean bovinos, porcinos ó aves. A partir de ellos y debido a inadecuados procesos de manipulación, sacrificio, producción, almacenamiento y distribución, estas bacterias pueden diseminarse a los trabajadores agropecuarios, a fuentes de agua, a manipuladores de alimentos y finalmente al consumidor, propiciando la aparición de ETAs (Donado-Godoy, 2012).

A pesar de los avances en la comprensión de la patogenia de las enfermedades infecciosas y en el tratamiento de las mismas, la enfermedad diarreica continúa siendo una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. En países en vía de desarrollo, la diarrea infecciosa es una de las principales causas de la mortalidad infantil, con un estimado de 2 millones de muertes / año, que se suman a sus efectos a largo plazo, como los déficits permanentes en el desarrollo físico y cognitivo atribuible a los primeros episodios repetidos de diarrea infantil y las infecciones parasitarias intestinales (Ochoa et al., 2009). Todas estas consecuencias parecen ser un predictor más fuerte de los efectos en salud a largo plazo de la diarrea que las mismas tasas de incidencia (Ochoa et al., 2009).

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en uno de los problemas fundamentales de la salud pública mundial, siendo esta una problemática cada vez más grave y en

desarrollo, ocasionando infecciones que implican un tratamiento prolongado, costoso y un mayor riesgo de muerte (WHO, 2005).

En Colombia, Donado-Godoy (2010) realizó un estudio en las regiones avícolas de Santander y Cundinamarca y determino una prevalencia para *Salmonella* spp. de 40 % y 26 % en granjas de pollo de engorde y en puntos de venta de carne de pollo, respectivamente. Este estudio también reportó una alta resistencia a múltiples antibióticos en los aislamientos encontrados y la exploración de los patrones genotípicos mostraron una alta similitud entre los dos tipos de aislamientos, lo que sugiere una diseminación desde el eslabón primario. No existe un estudio de monitoreo de estos patógenos a lo largo de la cadena avícola ni reportes en otras cadenas de producción (Donado-Godoy, 2012).

La problemática expuesta anteriormente, pone de manifiesto la necesidad de identificar los puntos críticos en el proceso de transmisión de patógenos y la importancia de evaluar la resistencia antimicrobiana en microorganismos aislados de cadenas productivas especialmente en el área avícola (Aarestrup *et al.*, 2002).

Para conocer la resistencia en todos los eslabones de la cadena avícola y complementar los estudios realizados por Donado-Godoy se propuso un estudio longitudinal con el objetivo de evaluar los perfiles de resistencia en *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. aisladas (abuelas, reproductoras y de pollo de engorde) en una empresa de genética aviar ubicada en el departamento de Cundinamarca, Tolima y Atlántico.

Además de la identificación los perfiles de resistencia antibacteriana más comunes en los componentes de la cadena productiva avícola, para las bacterias antes mencionadas se estableció la posible relación clonal entre los aislamientos de abuelas, reproductora, pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta.

1. OBJETIVOS

1.1. GENERAL

Evaluar los perfiles de resistencia en *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. aisladas (abuelas, reproductoras y de pollo de engorde) en una empresa de genética aviar ubicada en el departamento de Cundinamarca, Tolima y Atlántico

1.2. ESPECÍFICOS

Determinar el perfil de resistencia a los antibióticos en *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp, que circulan en la cadena productiva avícola, aisladas a partir de muestras de hisopos de arrastre, materia fecal, cama, hisopo cloacal, tejidos de pollitos de 1 día, huevos quedados en bandeja, fuentes de agua y muestras de concentrado.

Establecer la relación clonal de los aislamientos obtenidos de *Salmonella* spp, en abuelas, reproductoras y pollo de engorde en la cadena productiva avícola.

Plantear medidas de prevención para la cadena productiva avícola en Colombia.

Fortalecer la base de datos del programa Colombiano para la Investigación y Vigilancia Integrada de la Resistencia Antimicrobiana (COIPARS).

2. JUSTIFICACIÓN

El proyecto busca, además de determinar la situación sanitaria actual, aproximarse a la problemática alrededor de la resistencia antimicrobiana, dentro de las pautas normativas dadas por la OMS (WHO, 2011), con relación a las medidas que los gobiernos y sus aliados nacionales tienen que aplicar para combatir la resistencia a los antimicrobianos.

En Colombia es necesario conocer el papel que juegan los diferentes eslabones de las cadenas productivas de alimentos en la transmisión de ETA. Los agentes etiológicos como *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes* *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. tienen una tasa de letalidad elevada y pueden producir secuelas graves en la salud de las personas que adquieren la infección. Se considera relevante, determinar cuáles son los puntos más críticos en el proceso de la transmisión de estas bacterias y de su resistencia antimicrobiana en la cadena productiva avícola. Con el desarrollo de este, estudio se puede obtener una base científica que les permita a las autoridades sanitarias competentes, diseñar e implementar estrategias y políticas acerca de las medidas de control y prevención de estos microorganismos en todos los puntos de la cadena productiva avícola.

La ejecución de la presente investigación permitirá una mejor comprensión de los procesos asociados a la generación de ETA en Colombia, fortalecer la vigilancia epidemiológica de estos eventos en el país y adicionalmente permitirá implementar medidas de prevención y/o control para mejorar la competitividad de los productos avícolas a nivel nacional e internacional, situación relevante para los productores nacionales teniendo en cuenta la reciente aprobación del tratado de libre comercio entre Colombia y Estados Unidos, el cual traerá consigo la entrada de estos productos al comercio colombiano a un precio muy bajo respecto al que pueden ofrecer los productores colombianos.

En Colombia, el Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS) a través de la Red Nacional de Laboratorios inició en 1997 el programa de vigilancia de ETA, que incluye *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Vibrio* sp. y recientemente *Campylobacter* sp. y *L. monocytogenes*. Por medio de esta vigilancia se ha establecido que *Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter jejuni* y *L. monocytogenes* son unas de las causas más comunes de gastroenteritis de origen alimentario en humanos, que pueden traer consigo graves secuelas para la salud de las personas infectadas y que circulan en diferentes regiones del país. Los aislamientos clínicos de estos microorganismos presentan una gran diversidad genotípica y en su mayoría son resistentes (67%) a múltiples antibióticos (INS, 2015).

3. MARCO TEÓRICO

3.1. MARCO REFERENCIAL

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son importantes y requieren el establecimiento de esquemas de vigilancia epidemiológica para determinar el número de casos y sus causas (Aarestrup et al., 2002). La incidencia mundial de ETA es difícil de estimar, pero se reporta que en el 2005 alrededor de 1,8 millones de personas murieron a causa de enfermedades diarreicas. Una gran proporción de estos casos se puede atribuir a la contaminación de alimentos y de agua potable con bacterias (FAO, 2016).

Latinoamérica experimentó al menos 6.000 brotes de diversos tipos de enfermedades de origen alimentario entre 1993 y 2002 según las cifras ofrecidas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la OMS. Es importante entender el fenómeno de *Campylobacter* spp. termófilo, y específicamente de *Campylobacter jejuni* en pollos para asar, tanto desde el punto de vista de la salud pública como del comercio internacional (FAO, 2002)

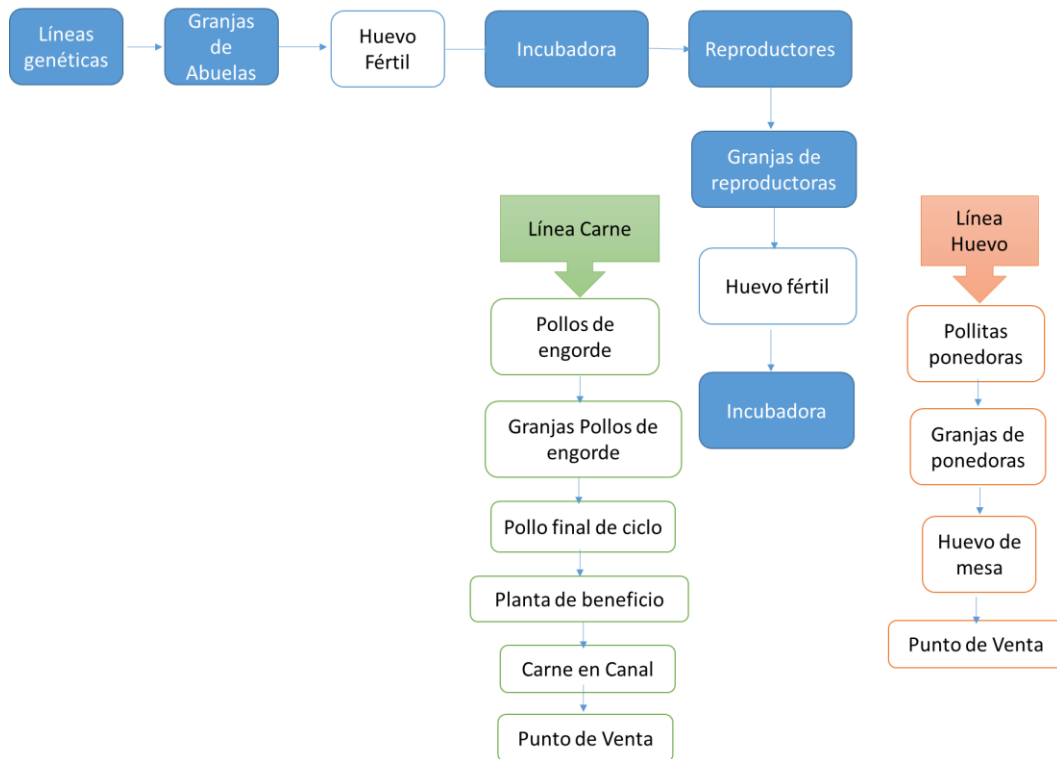
3.1.1. Procesos de Producción Avícola. La avicultura en Colombia se inició entre las décadas de los veinte y los cuarenta, en donde se importaron varios ejemplares para reproducción, aunque el punto de partida fue en el año 1950 (Vega & Mojica, 2005).

En la década de los sesenta y setenta el negocio de la producción avícola en Colombia pasa de ser eminentemente artesanal a una actividad con características industriales (Vega, 2005). La producción avícola se estructura de acuerdo al siguiente ciclo: abuelos, reproductores, y productos comerciales (Macari, 2005).

La cadena productiva de la avicultura comercial tiene seis procesos productivos

interdependientes, tecnificados y exigentes en aspectos de la genética, nutrición, sanitarios, bioseguridad y medioambiente, los cuales se pueden apreciar en la figura 1.

Figura 1 Procesos productivos generales de las granjas avícolas



Fuente: Adaptado de (Aguilera, 2014)

Las abuelas son aves destinadas a la producción de huevos fértiles incubables, de acuerdo a la línea genética darán origen a la reproductoras de engorde o a las reproductoras de huevo para producir huevo fértil (Aguilera, 2014).

- *Abuelos*: Se importan pollitos de 1 día de edad de las cuatro cepas (hembras de la línea hembra, machos de la línea hembra, hembras de la línea macho y machos de la línea macho) de Europa, USA y Brasil pertenecientes a cada línea genética. Estos se crían en granjas y en un ciclo de 24 semanas las abuelas entran en producción de huevos fértiles, siguen el mismo ciclo hasta cumplir 63 semanas de edad. Estos huevos

se recogen diariamente y se llevan a una incubadora por 18 días. Después estos huevos se pasan a las nacedoras por 3 días, para que el pollito esté listo para nacer (Cobb, 2008)

- *Reproductores*: Los pollitos de 1 día de edad se crían en granjas, estos provienen de los huevos fértiles que ponen las abuelas. En un ciclo de 24 semanas de la misma manera que las abuelas éstas inician producción y siguen el mismo ciclo hasta cumplir las 58 semanas de edad (Cobb, 2008)
- *Productos comerciales* (pollo de engorde): La genética avícola en Colombia se ha mejorado para los pollos de engorde, el 95% pertenece a las razas Cobb y Ross. Estas razas son de buena conversión alimenticia, alta rusticidad en el manejo y de fácil adaptación a los cambios climáticos, siendo Cobb la de más rápido crecimiento que Ross (Aguilera, 2014). Los pollitos de 1 día de edad se crían en granja, estos provienen de los huevos fértiles que ponen las reproductoras. Se crían por un periodo de 35 a 42 días. Luego estos pollos van saliendo a sacrificio, el cual se da en la planta de beneficio perteneciente a la empresa o en acuerdo mutuo se hace el sacrificio en una planta de beneficio de otra empresa (Cobb 500, 2012).

Las granjas de producción de pollo de engorde llegan de un 1 de nacidas y se vacunan de acuerdo al plan de vacunación diseñado por el técnico de la granja y los factores de riesgo de la zona. Las aves se alojan en galpones que tienen el piso en tierra o cemento y la cama de viruta o cascarilla de arroz (Aguilera, 2014)

El proceso del pollo de engorde desde su llegada a la planta de beneficio hasta el producto para la venta incluye las Operaciones primarias de descargue, pesaje, colgado, aturdido, degüelle, escaldado, desplumado, evisceración, lavado de canales (productos químicos para el lavado en línea) y enfriamiento (chiller) (Aguilera, 2014). Los pasos donde hay mayor contaminación de los pollos de engorde son el escaldado, desplume y evisceración, también incluye las operaciones secundarias de maduración,

Corte, deshuesado y porciones (Urrea, 2011).

El producto sale de la planta de beneficio y es distribuido hacia los puntos de venta independientes de la empresa, en las plazas de mercado o en supermercados.

3.1.2. Resistencia antimicrobiana. Los agentes antimicrobianos son medicamentos esenciales para la salud humana y animal. Sin embargo, la aparición y propagación de organismos patógenos resistentes a los antimicrobianos son una creciente preocupación para el mundo. Por esta razón la OMS promueve directrices para minimizar el impacto de la resistencia antimicrobiana a la salud pública asociado con el uso de antimicrobianos en alimentos de origen animal (OMS, 2016)

El desarrollo de la resistencia antimicrobiana en las bacterias es uno de los problemas de salud pública más importantes ya que el uso indebido de agentes antimicrobianos en animales ha reducido la cantidad de antibióticos que se utilizan en el tratamiento en humanos, por esta razón es importante realizar estudios a nivel de la cadena primaria para determinar cómo se encuentra la resistencia a este nivel (OMS, 2016).

AGISAR se estableció en diciembre del 2008, para apoyar los esfuerzos que realiza la OMS para reducir el impacto de la resistencia a los antimicrobianos en la salud pública, asociado con el uso de antimicrobianos en animales de consumo.

Desde el año 2005 la OMS ha elaborado una actualización periódica de todos los antimicrobianos actualmente utilizados para la medicina humana (principalmente también en medicina veterinaria) agrupados en 3 categorías basados en su importancia para la medicina. La lista tiene por objeto ayudar a la resistencia antimicrobiana asegurando que todos los antimicrobianos especialmente antimicrobianos de importancia crítica, se utilizan prudentemente tanto en Medicina Humana como Veterinaria (WHO, 2016).

La resistencia a los antibióticos puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia es natural propia de cada familia o grupo bacteriano, por ejemplo todas las bacterias Gram negativas son resistentes a la vancomicina. Mientras que la resistencia adquirida es variable y se adquiere, por ejemplo de cepas de *Escherichia coli* resistentes a la ampicilina y cepas de *Staphylococcus* resistente a la meticilina. Esta resistencia es la que se quiere evitar con el uso indiscriminado de antibióticos. (Cota-Rubio et al, 2014)

Los mecanismos de resistencia se pueden agrupar en tres: Inactivación enzimática, modificaciones en el sitio blanco y alteraciones de permeabilidad.

En la inactivación enzimática el principal mecanismo es la hidrólisis como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas como acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.

Las modificaciones en el sitio blanco son estrategias de modificación en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, como por ejemplo las alteraciones en las PBP de *Streptococcus pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso ceftriaxona (Vignoli y Seija, 2012).

El desarrollo de multirresistencia en patógenos causantes de gastroenteritis es favorecida por la presión selectiva creada por el uso de los antibióticos en humanos, la agricultura y en animales (Rabatsky-Ehr, 2004). El uso de los antibióticos no solo incrementa la resistencia en bacterias patógenas sino también en la flora endógena del hospedero, de tal forma que las bacterias resistentes de la flora intestinal de animales puede infectar la población humana por contacto directo o por productos alimenticios de origen animal, estas bacterias resistentes pueden colonizar a los humanos y transferir los genes de resistencia a otras bacterias de la flora endógena del hombre favoreciendo su diseminación (Van Den, 2000).

La mayoría de seres humanos muestran la evidencia de la transferencia de la resistencia de animales proviene de la epidemiología de las enfermedades zoonóticas, principalmente de las infecciones por *Salmonella* y *Campylobacter*, donde la cadena alimenticia es el medio de transmisión (Threlfall, 2006). De tal forma que, el desarrollo de cepas multirresistentes se ve favorecida por interacciones entre humanos y animales que promueven el traspaso de bacterias resistentes a los antibióticos ó de genes de resistencia (Phillips, 2004).

En Colombia algunas instituciones han construido procesos de vigilancia del consumo de antibióticos en humanos y cuentan con información para la contención de la resistencia bacteriana a nivel local (OMS, 2016).

Donado-Godoy *et al*, realizaron un plan piloto para monitorear la RAM en granjas avícolas, mataderos y mercados minoristas en Colombia creando el Programa Colombiano de Vigilancia Integrada para la Resistencia a los Antimicrobianos (COIPARS), este programa continua monitoreando la resistencia a los antimicrobianos en diferentes cadenas productivas para tener una base de datos sólida. (Donado-Godoy *et al*, 2015)

3.1.3. *Salmonella* spp. La salmonelosis es la mayor causa de enfermedad diarreica de origen alimentario alrededor del mundo y se considera uno de los problemas más graves de salud pública, lo cual representa un costo económico alto en muchos países (INFOSAN, 2005).

La salmonelosis es causada por enterobacterias del género *Salmonella*. Un total de 2501 serotipos han sido identificados hasta el año 2004 y todos ellos pueden causar enfermedad en humanos. Entre las salmonelosis encontradas en países en desarrollo se encuentra la fiebre tifoidea producida por *Salmonella entérica* serovar Typhi y Paratyphi, la cual es una infección severa que puede producir complicaciones y muerte. Las salmonelosis producidas por *Salmonella* no tifoideas son también importantes en

países en vías de desarrollo y la mayoría de estos serotipos causan gastroenteritis, que a menudo no necesitan tratamiento, pero pueden ser graves en niños, ancianos y pacientes con sistema inmunológico deficiente. Dentro de los serotipos más importantes asociados a la salmonelosis no tifoidea transmitida de animales a humanos se encuentran *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium (Pointon, et a 2008; WHO, 2005)

El curso clínico de la salmonelosis no tifoidea humana se caracteriza generalmente por comienzo agudo de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y a veces vómito. En algunos casos, especialmente en niños y ancianos, la deshidratación asociada puede llegar a ser grave y potencialmente mortal (Oscar, 2004).

Para el tratamiento se utilizan antimicrobianos, pero su uso inadecuado de ha causado una alta resistencia, llevando a una reducción en el número de antibióticos disponibles para el tratamiento eficaz de *Salmonella* sp. (WHO, 2005). A nivel mundial, *Salmonella* presenta perfiles de multi-resistencia que se han asociado con mayores tasas de morbilidad y mortalidad (Martin, et al, 2014) (McDermott, 2010) y con el uso inadecuado de antimicrobianos en animales productores de alimentos (Angulo, 2004).

La fuente primaria de Salmonelosis para los humanos son los animales y alimentos de origen animal (carne, huevo y leche) (Mercado, y otros, 2012). Los microorganismos causales pasan a través de la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta los hogares (Mercado, y otros, 2012). Está comprobado que la carne de pollo y sus derivados son la fuente más importante de infecciones por *Salmonella* en humanos en países en vías de desarrollo (Anzola & Pedraza, 2008).

Por lo tanto, en la actualidad, se hace mucho énfasis en la prevención y control de la *Salmonella* en las explotaciones animales ya que estas se consideran la mayor fuente de brotes en humanos (Parveen, 2007).

Según la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), la Salmonellosis es causada por microorganismos de dos especies de *Salmonella* (*Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*) que se encuentran con frecuencia en el ambiente, en aguas residuales de granjas y humana y en cualquier material contaminado con materia fecal (OIE, 2017). La enfermedad puede afectar a todas las especies de animales domésticos, los más susceptibles son los animales jóvenes o en estado de gestación (OIE, 2017).

La frecuencia del muestreo y el tipo de muestra dependerá de los hallazgos clínicos, los servicios de laboratorio, los datos epidemiológicos y los objetivos. (OIE, 2017). Las muestras deben recolectarse antes del inicio de tratamiento con antibioticos, en explotaciones avícolas intensivas, las muestras ambientales, como cama y basura, hisopos de barrido o frotis cloacales. (Donado-Godoy *et.al*, 2012). El aislamiento de salmonella en animales con infecciones subclínicas es importante porque pueden liberar bacterias de modo intermitente y en cantidades bajas. (OIE, 2017) (Donado-Godoy *et al.*, 2012).

La epidemiología de la infección por *Salmonella enterica* involucra grandes distancias geográficas y aislamientos relacionados a un episodio de infección, por lo tanto deben ser discriminadas en forma eficaz. La tipificación molecular es una herramienta aplicada en la vigilancia e investigación de brotes de infecciones en humanos, sin embargo algunos métodos son menos óptimos para la discriminación de subtipos (OIE, 2017).

La Electroforesis de Campos Pulsados (PFGE), se considera la prueba de oro para la tipificación de aislamientos bacterianos y ha sido utilizada para investigar enfermedades transmitidas por alimentos, debido a que facilita la toma de decisiones de importancia epidemiológica, al detectar brotes, lo cual permite intervenir y detener fuentes de infección como casos de brotes esporádicos no relacionados (Bender et al 2001)

Recientemente los métodos basados en la secuencia de ADN, como La Tipificación multilocus de secuencias (en inglés Multilocus sequence typing, MLST), han sido utilizadas en bacterias con secuencias altamente conservadas (Lukinmaa, 2004) (Maiden, 2006), MLST es laborioso y dispendioso y tiene una limitada habilidad para resolver la diversidad genética entre *Salmonella* Enterica comparado con PFGE (Fakhr, 2005).

El análisis multiple loci variable number of tandem repeats (MLVA), es una técnica de subtipificación que involucra la amplificación y el análisis de fragmentos de regiones polimórficas de ADN que contiene secuencias repetitivas en tandem de número variable, que varían en el número en varias regiones del genoma microbiano, que ha sido propuesto como alternativa a la técnica de su subtipificación para PFGE, es un método con alto poder discriminatorio dentro de especies altamente clónales, usado para la evaluar especies bacterianas como *Salmonella* Typhimurium (Torpdahl, 2007).

Teniendo en cuenta que los reservorios naturales de *Campylobacter* spp y *Salmonella* Enteritidis son los animales como pollos y cerdos, las personas en contacto con estos animales, como operarios y manipuladores de alimentos, se convierten en el personal de mayor riesgo de contaminarse estos microorganismos. Los manipuladores de alimentos pueden ser portadores de microorganismos patógenos como, *Salmonella* spp, *E. coli* y *Campylobacter* spp entre otros, debido a malas prácticas o hábitos de higiene en las actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte y expendio de alimentos. Así, se puede generar contaminación con estos microorganismos hacia los alimentos y estos a su vez servir de vehículo para el consumidor, ocasionando ETA (OIE, 2017).

3.1.4. *Campylobacter* spp. El género *Campylobacter* está compuesto por 16 especies, siendo *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari* las que tienen importancia médica y veterinaria (Gutierrez, 2008). Morfológicamente, se han descrito como bacilos Gram negativos móviles con morfología típica curvada, de crecimiento

lento (48 - 96 horas) en condiciones de microaerofilia a 42°C o 25°C dependiendo de su naturaleza termófila o termotolerante (Mishu Allos, 2011)

Las aves en la granja son colonizadas en su mayoría por *C. jejuni*, con menos frecuencia por *C. coli* y raramente por otras especies de *Campylobacter* (Allos Mishu, 2001). Los índices de colonización en pollos están relacionados con la edad. La mayor parte de las poblaciones son negativas hasta los 2 a 3 meses de edad. Una vez se produce la colonización por *Campylobacter* en poblaciones avícolas, la transmisión por coprofagia es extremadamente rápida y pueden llegar a colonizarse en 72 horas hasta el 100% de las aves dentro de una explotación (Forbes y otros, 2009). La mayoría de las aves albergan grandes cantidades de organismos (>10⁶ UFC/g de heces). Cuando se utilizan frotis, se debe utilizar un medio de transporte (Amies, Cary Blair o Stuart), (OIE, 2008), (Boulianne, 2013).

Campylobacter spp. es un colonizador habitual del tracto gastrointestinal de la mayoría de mamíferos y pollos, los cuales se han identificado como reservorios naturales de *Campylobacter sp*, encontrándose en piel, buche, hígado, ciego, intestino delgado, intestino grueso y cloaca (Jeffrey, 2001).

Campylobacter sp. es una de las principales causas de infecciones zoonóticas entéricas en las naciones desarrolladas, en donde la enteritis que causa, se presenta como una infección sintomática. En los países en vía de desarrollo la campylobacteriosis es de carácter hiperendémico con una tasa de infecciones asintomáticas elevada (WHO, 2000).

La dosis infectiva mínima es de 10² a 10⁴ UFC, el periodo de incubación es de 1 a 7 días, aunque se han reportado periodos hasta de dos meses antes de la aparición de síntomas (Kapperud, 1992). La sintomatología incluye fiebre, dolor abdominal y una diarrea profusa pero de resolución auto limitada en la mayoría de los casos (Castañeda, Braña V., Cortes, & Martinez V., 2013).

En grupos de pacientes infectados por VIH, cáncer o adultos mayores, la incidencia es más alta que en la población general y ha sido asociada con el grado de inmunocompetencia de cada paciente (Hayath et al., 2007). En humanos, la campilobacteriosis puede causar complicaciones locales como colecistitis, peritonitis e infecciones extraintestinales (bacteremias, meningitis, endocarditis y artritis séptica). Estudios recientes demuestran la asociación entre el desarrollo de polineuropatías e infecciones por *C. jejuni*, como el síndrome de Miller Fisher y de Guillen Barré (SGB) (Ang, 1999) (Hayath et al., 2007).

La infección con este agente induce la producción de anticuerpos que causan una reacción cruzada con los gangliosidos neuronales, lo cual está relacionado con el daño del sistema nervioso, los síntomas neurológicos asociados a SGB ocurren 1-3 semanas después de la enfermedad diarreica (Ang, 1999) (Jacobs, Hazenberg, Doorn y Endtz, 2007). Algunos investigadores han propuesto que en los países en los cuales es más frecuente la EDA, los índices de desarrollo de parálisis flácida aguda no polio asociadas a post-infecciones por *C. jejuni* puede ser alto (Mishu Allos, 2011; Nielsen et al., 2010).

La presentación de brotes por *Campylobacter* ocurre en una pequeña fracción de las infecciones y la mayoría de estas son de presentación esporádica, la transmisión persona a persona es poco usual por lo cual la mayoría de los brotes reportados se deben al consumo de aves de corral cocidas inadecuadamente (Forbes et al., 2009) (O'Leary, Harding, Fisher y Cowden, 2009).

El tratamiento antibiótico es necesario en los casos en los que los síntomas se prolongan por más de una semana cuando las infecciones son severas y afectan mujeres embarazadas, pacientes inmunocomprometidos, o se presentan en instituciones cerradas donde el riesgo de diseminación es más alto. El tratamiento de elección son los macrólidos o las fluoroquinolonas, en caso de septicemia y otras complicaciones sistémicas se emplean aminoglucósidos intravenosos. Sin embargo,

se ha presentado un rápido incremento en la proporción de cepas resistentes a estos antibióticos, desde los años 90 en Europa, Reino Unido y Estados Unidos. La magnitud del problema es tal que las agencias gubernamentales de salud y agricultura están de acuerdo en que la resistencia emergente en cepas de *Campylobacter* constituye un problema de salud pública (Moore, 2006).

En España el 72% de las cepas aisladas de origen humano y el 99% de los aislamientos en aves y cerdos presentan altos niveles de resistencia a las fluoroquinolonas (Saenz, 2000). Esto sugiere una asociación entre el uso de antibióticos en la industria veterinaria y el desarrollo de aislamientos resistentes en humanos (Alfredson, 2007).

C. jejuni y *C. coli* presentan resistencia natural a los betaláctamicos (penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación), folatos con inhibidores (trimetopim sulfametoxazol), rifampicina, streptograminas B, polimixina B y vancomicina, así como resistencia adquirida a Macrólidos, Quinolonas y Fluoroquinolonas (Kathryn, 2007).

3.1.5. *Listeria monocytogenes*. *Listeria spp.*, es un germen formado por bacilos anaeróbicos facultativos de 0.4 y 1.5 μm , no tiene capsula y es inmóvil a temperatura entre 10 y 25 °C. Su principal reservorio es el suelo, agua, efluentes y una gran variedad de alimentos, así como la materia fecal de humanos y animales (Ruiz-Bolivar & Poutou-Piñales, 2008).

El género *Listeria* incluye seis especies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* y *L. grayi*. *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son las únicas especies patógenas del género. *L. monocytogenes* genera brotes o casos esporádicos (listeriosis) en humanos y ha sido asociada principalmente con infecciones invasivas en más de 40 especies entre mamíferos y aves. En humanos la listeriosis invasiva afecta principalmente el Sistema Nervioso Central (SNC) conduciendo a la muerte o en su defecto deja secuelas neurológicas (Ruiz-Bolivar & Poutou-Piñales, 2008).

3.1.6. *Escherichia coli*. Forma parte de la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, no acidorresistente, de tinción uniforme, que no forma esporas y que puede medir 2 a 3 x 0.6 μm , y puede variar su tamaño y forma. Muchas cepas son móviles y tienen flagelos peritricos, aerobios-anaerobios facultativos. La mayoría no son patógenas, un número limitado de cepas produce infecciones extraintestinales. En el ambiente de los criaderos de las aves de granja existe una cantidad elevada de *E. coli* debido a contaminación fecal (Furtula *et al.*, 2010).

Varios programas de vigilancia se han iniciado para generar datos de referencia sobre la prevalencia de la resistencia en diferentes especies bacterianas, incluyendo *Escherichia coli*. Los mecanismos genéticos que conducen a la resistencia bacteriana son múltiples y su propagación en diferentes poblaciones bacterianas se habilita por los sistemas de transferencia de alta eficiencia como los elementos genéticos móviles. Durante los últimos años, se ha establecido la importancia de integrones (sistemas de expresión génica móvil) en la difusión de la resistencia en *E. coli*.(Garcia-garrote & Cercenado, 2000)

Debido a su importancia epidemiológica, la prevalencia y la naturaleza de la resistencia a los antimicrobianos de bacterias zoonóticas productora de toxinas de *E. coli* ha sido el tema de muchos estudios, diarreicas y otras enfermedades graves. En aves suele ser una complicación la colibacilosis, la micoplasmosis, bronquitis infecciosa, la enfermedad de Newcastle, la enteritis hemorrágica, y la bordetelosis del pavo. Así mismo una mala calidad del aire y otros factores ambientales de estrés pueden predisponer a las infecciones por *E. coli*, (Guerra *et al.*, 2006).

Dentro de las cepas patógenas se encuentran los serotipos 02, 078 y 01, Pero un número elevado de los restantes serotipos también produce enfermedad. La infección generalizada aparece cuando entra en la circulación, a partir de las vías respiratorias o del intestino, un número elevado de cepas patógenas de *E. coli*. La bacteriemia

progresa a septicemia y muerte o extiende la infección a las superficies serosas, el pericardio, las articulaciones y otros órganos (Hamelin et al., 2006)

Cuando las condiciones ambientales del intestino cambian por diversas razones (alimento, ambiente, alta densidad de animales, temperaturas extremas, entre otras.) se produce una proliferación anormal de este germen produciendo un cuadro patológico (diarrea, endotoxiosis). Además son capaces de producir toxinas y crear un cuadro clínico compatible con el de una intoxicación. La colibacilosis diarreica, es muy frecuente en animales jóvenes lactantes, produciendo diarrea y deshidratación. Puede estar asociada a otros agentes intestinales y comportarse como un germen de salida. Produce fiebre y en ocasiones alta mortalidad. Existe gran cantidad de factores predisponentes asociados al ambiente de los animales y a la alimentación de sus madres (Rosengren et al 2009).

La colibacilosis septicémica, se puede producir a cualquier edad. Los gérmenes pasan a sangre y colonizan todos los órganos produciendo lesiones; cursa con linfadenitis mesentérica marcada que puede diferenciarla de otras septicemias, el origen es ambiental y a veces alimentario. La colibacilosis enterotoxigenica está producida por endotoxinas secretadas por *E. coli*, hay un cuadro de intoxicación en el que son frecuentes síntomas nerviosos, cursando con alta mortalidad (Bortolaia, et al., 2011).

La industria veterinaria administra antibióticos a niveles subterapéuticos se utilizan como promotores de crecimiento y a través del tiempo se ha ido detectando resistencia a diferentes antibióticos (Cota-Rubio et al., 2014).

Existen diferentes investigaciones de resistencia bacteriana en salud pública y su vinculación con aislamientos procedentes de animales, y el aumento de la resistencia a las quinolonas en patógenos como *Escherichia coli* y *Campylobacter*, tanto de origen animal como humano se atribuye al amplio consumo de los mismos en las terapias antimicrobianas (Puig Peña, et al, 2011).

El amplio uso de agentes terapéuticos en medicina humana y veterinario a lo largo de los años ha ocasionado una selección en la resistencia bacteriana a diferentes antibióticos, la gran capacidad de adaptación de las bacterias a las diferentes terapias y la falta de aparición de nuevas familias de antibióticos eficaces han convertido a la resistencia bacteriana en un fenómeno de importancia en veterinaria y salud pública (Antilles, *et al.*, 2014).

En estudio realizado en el año 2013 de 2623 cepas de *Escherichia coli* aisladas en aves desde el año 1998 al 2013 obteniendo resistencia frente a enrofloxacin, doxiciclina y amoxicilina, demostrando un aumento en la resistencia a amoxicilina se mantienen elevadas durante todos los años. También demostraron un aumento de la aparición de cepas resistentes a los aminoglucósidos especialmente frente a la neomicina, la aparición de estas cepas resistentes a antimicrobianos ha limitado las opciones terapéuticas para combatir infecciones bacterianas en avicultura (Antilles, Blanco, Camprubi, & Jove, 2014).

3.1.7. *Enterococcus spp.* El género *Enterococcus* fue creado en 1980, pertenecía al grupo D del género *Streptococcus*, sin embargo y debido a las diferencias genéticas, este fue retirado e incluido en un grupo nuevo. Los miembros de este género eran clasificados como *Streptococcus* Grupo D hasta 1984 cuando los análisis de ADN genómicos indicaron que un género separado era más apropiado (Tenover *et al.*, 1995).

Los *Enterococcus* son cocos Gram-positivos que se presentan en parejas (diplococos), siendo difícil distinguirlos de *Streptococcus* sólo con base a sus características físicas. Dos de las especies son comensales en el intestino humano: *E. faecalis* y *E. faecium*. El *Enterococcus* es un organismo facultativo anaerobio, esto es, prefiere usar oxígeno, aunque sobrevive bien en su ausencia. Típicamente exhiben gamma-hemólisis en agar sangre de cordero. (Giron, 2003).

Los *Enterococcus* forman parte de la flora comensal intestinal tanto en humanos como en otros mamíferos, aves e insectos. Estos son capaces de sobrevivir en medios poco enriquecidos como por ejemplo agua, suelo y alimentos; son causantes de infecciones endógenas, como infecciones del tracto urinario (la más frecuente), endocarditis infecciosa, bacteriemias e infecciones intrahospitalarias (Giron, 2003)

La composición y diversidad de especies de Enterococos en las heces de aves silvestres parece depender sobre todo de la alimentación y condiciones del ambiente en el que se desarrolla el ciclo vital del hospedero. Así, los animales en estado cautivo o de hábitats periurbanos o que presentan una dieta oportunista son los que presentan una mayor diversidad de enterococos. Por el contrario, cuando existe una especialización en un alimento y/o habitan en ambientes con menor influencia de la actividad humana se encuentra una menor diversidad de enterococos (Silverman et.al, 1998).

Los *Enterococcus* tienen la capacidad de desarrollarse entre 10°C y 45°C y en presencia de 6.5% de NaCl a pH de 9.6, hidrolizar la esculina en presencia de 40% de bilis, y producen pirrolidonil arilamidasa (PYR) (Cercenado, 2011).

Algunas cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* producen una citolisina que funciona como hemolisina frente a eritrocitos humanos, pollos, conejo, caballos y bovinos, la cual es tóxica para ciertos tipos de células eucariontes. (Garza-Velasco, et al., 2014)

La sustancia de agregación es una proteína ligada a la superficie, codificada por un plásmido, que produce la aglutinación de los microorganismos para facilitar el intercambio de plásmidos. Se cree que esta sustancia actúa en la adherencia de los *Enterococcus* a las células de los epitelios intestinal y renal, y a las vegetaciones cardíacas en un modelo experimental de endocarditis.

Las cepas de *E. faecalis* también producen feromonas, que son pequeños péptidos secretados por los microorganismos que producen la transferencia de DNA plasmidico por conjugación entre cepas; también parece que estas mismas moléculas pueden funcionar como quimiotácticas para los neutrófilos, lo que colabora en el aumento de la respuesta inflamatoria a la infección.(Arias, 2003).

Los ácidos lipoteicoicos constituyen el antígeno grupo D de los *Enterococcus* y también pueden ser factores de virulencia por inducción en la producción de factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón lo que lleva a la modulación de la respuesta inmune (Cercenado, 2011).

Algunas cepas de *E. faecalis* aparentemente producen también una bacteriocina codificada por plásmidos de 7.4 kDa, denominada AS-48, que posee actividad lítica para un amplio espectro de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Por último, algunas cepas de *E. faecalis* producen diversas enzimas extracelulares, como gelatinasa y hialuronidasa (Hwang et al., 2009).

Fisiopatología y cuadro clínico: Las especies de *Enterococcus* producen infecciones complicadas del tracto urinario, bacteriemia, endocarditis, infecciones intraabdominales y pelvianas, infecciones de tejidos blandos y heridas, sepsis neonatal y raramente meningitis. Ha sido asociada con cistitis, pielonefritis, prostatitis y abscesos periféricos; la mayoría de estas infecciones son de origen nosocomial o se asocian con anomalías estructurales o intervenciones instrumentales en el tracto urinario (Giron, 2003).

Los microorganismos en general acceden al torrente circulatorio a través del tracto urinario por sepsis intraabdominales o pelvianas, heridas, úlceras por decúbito o dispositivos de acceso intravenoso. También producen del 5% al 20% de todos los casos de endocarditis y son la quinta causa más frecuente de endocarditis de prótesis valvulares (Garza-Velasco et al., 2014).

Los enterococcus presentan resistencia innata a cefalosporinas, aztreonam, penicilinas, antiestafilococicas, clindamicina e invitro a trimetropim sulfa. Hasta finales de los años 80 las infecciones por enterococos fueron tratadas por combinaciones de betalactamicos (penicilina o ampicilina) y estreptomicina o gentamicina a pesar de la resistencia que presentaban y a merced del efecto sinérgico de las anteriores combinaciones (Giron-Gonzalez, 2003).

3.2. MARCO CONTEXTUAL

Se estima que entre el bienio 2014-2015 en el informe entregando por INFOSAN se presentaron 48 actividades relativas a peligro biológico entre las cuales se encuentran *Salmonella spp* 10 eventos, *Listeria monocytogenes* (8), *Clostridium spp* (6), *Escherichia coli* (5) entre otros. Los productos mas frecuentemente afectdos en estas actividades fueron los cárnicos (13), el pescado y productos marinos (11), frutas y productos derivaos (7) y las hortalizas y productos derivados (6) (INFOSAN, 2016).

En el 2014 se registro en Canada 63 casos y en los Estados Unidos 31 casos brotes de salmonelosis producido por varios serotipos relacionados con nuemrosos productos que contenian semillas de chia crudas procedentes de Argentina contaminadas.

En Colombia, el INS es la entidad encargada de realizar la vigilancia fenotípica y genotípica de aislamientos de *Salmonella* recuperados de pacientes con gastroenteritis, infecciones extra intestinales y fiebre tifoidea ocurridos en el país. En el período 1997-2008 se caracterizaron fenotípicamente 2,488 aislamientos de *Salmonella enterica*, los cuales fueron enviados al laboratorio Nacional de Referencia por 23 laboratorios departamentales de Salud pública (INS, 2013).

La clasificación serológica mostró 79 serovares, siendo prevalentes Typhimurium (38.3%), Enteritidis (29,1%) y Typhi (7,8%). El análisis de la resistencia antimicrobiana demostró que *S. Enteritidis* y *S. Typhi* son más susceptibles a los antimicrobianos,

mientras que *S. Typhimurium* presenta una alta resistencia (Mercado, *et al.*, 2012) . Un total de 1646 (66.1%) aislamientos de *Salmonella entérica* correspondientes a 20 serovares fueron estudiados por electroforesis de campo pulsado (PFGE) con la enzima de restricción *XbaI*, encontrando una alta diversidad genética entre los serovares *S. Typhimurium* y *S. Typhi*, a diferencia de *S. Enteritidis* que fue altamente clonal (INS, 2013).

En el país, para el caso de *Salmonella* en la cadena avícola, los estudios son muy pocos, no tienen enfoque de cadena, y en la mayoría de los casos el tamaño de la muestra no es representativo de la población (Ruiz, 2006). Aunque es una enfermedad de control oficial, no existen programas de control en los que se haga vigilancia y certificación de granjas libres de *Salmonella* en ningún eslabón de la cadena avícola. Resultados de un estudio en el 2005 mostraron una prevalencia de *Salmonella* sp. en carcasas de pollo en plantas de beneficio de 7% (INS & INVIMA, 2008).

En el 2014 Donado-Godoy *et al.*, en un estudio realizado en las regiones de mayor producción avícola en el país, se reveló una prevalencia de 40% en granjas de pollo de engorde (Donado-Godoy y otros, 2015). Este estudio también reportó una alta resistencia a múltiples antibióticos en los aislamientos encontrados y estableció líneas base de prevalencia de *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* y *Enterococcus* e implemento un programa piloto para la vigilancia de *Salmonella* en la cadena avícola (Donado-Godoy *et al.*,2015).

La exploración de los patrones genotípicos mostró una alta similitud lo que sugiere una diseminación desde el eslabón primario (Donado, y otros, 2012). Adicionalmente, estudios de vigilancia realizados por el Laboratorio de Microbiología del INVIMA durante el periodo de 2001 a 2006 establecieron que entre los principales serotipos de *Salmonella* aislados de alimentos se encuentra *S. Enteritidis* (16%) (Comunicación personal con la Dra. Pilar Donado).

Un estudio del año 2012 se demostró la clonalidad entre aislamientos recuperados de carne de pollo en punto de venta y casos clínicos humanos en Colombia, además de encontrar un porcentaje significativo (20%) de correspondencia en los perfiles de resistencia entre estos (Bernal *et al.*, 2012). También se determinó la distribución de clones en cuatro serotipos de *Salmonella* Paratyphi B, Heidelberg, Enteritidis y Typhimurium identificando los más frecuentes, que en el caso de *Salmonella* Enteritidis correspondieron a los más frecuentes encontrados en casos clínicos humanos en Colombia INS. (Donado-Godoy *et al.*, 2012).

El *Campylobacter* sobresale al lado de los agentes clásicos causantes de diarrea, pues su frecuencia supera la de otros agentes bacterianos. Esta bacteria tiene forma bacilar curva, Gram negativa, oxidasa y catalasa positiva y es altamente móvil gracias a la presencia de un flagelo polar en uno o ambos extremos, su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 35 y 42 °C. Algunas de las especies del género son responsables de aborto, infertilidad y disentería en animales y las más relacionadas con diarrea en humanos son *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*. (Alfredson & Korolik, 2007).

Las especies más comunes que se han identificado del *Campylobacter* son: *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*; si bien el *C. jejuni*, origina el 90 - 95 % de las gastroenteritis bacterianas. El *Campylobacter* spp. es una bacteria termófila (crece bien a temperaturas de 42 - 43°C). Esta característica ha de utilizarse en los medios de cultivo selectivos para su crecimiento. Estos medios de cultivo han de ser ricos en nutrientes y con una atmósfera pobre en oxígeno y ricos en CO₂ (microaerofilia), y con antibióticos añadidos para inhibir la flora acompañante (Enriquecimiento). Ha de incubarse entre 24 - 48 horas. A partir del crecimiento obtenido, y en función de la temperatura de incubación es posible diferenciar la especie del *Campylobacter* spp. (48 horas más) (Castañeda *et al.*, 2013).

Para el caso de *Campylobacter* spp. en nuestro país la situación no difiere al panorama mundial, ya que por ejemplo en Bogotá, se han descrito brotes entéricos como

consecuencia del consumo de alimentos contaminados como carnes parcialmente cocidas y vegetales crudos (Herbert, 2004). Sin embargo existen pocos datos sobre la epidemiología de la *Campylobacter* y es posible que en la actualidad los casos en el territorio nacional hayan aumentado, pero debido a la falta de documentación de los eventuales brotes sumado a su difícil diagnóstico se ha limitado la obtención de datos representativos (Crespo, 1999).

Según los reportes de la Organización Mundial de la Salud la incidencia de infecciones por especies de *Campylobacter* se ha incrementado notablemente en muchos países en los últimos 20 años (Blaser, 2000; Vandamme, 2000; WHO., 2000), está confirmado que *Campylobacter jejuni* ha sido la causa más frecuente de diarreas infecciosas agudas, que supera incluso a las infecciones causadas por *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. La prevalencia de esta bacteria es mayor que la reportada para *Salmonella* sp. *Shigella* sp. y *Escherichia coli* O157:H7 (Blaser, 2000; Vandamme, 2000).

La epidemiología, los factores de riesgo asociado y las características genéticas de *Salmonella*, *Listeria* y *Campylobacter* aisladas a partir de fuentes clínicas, de alimentos y animales no ha sido estudiada de manera integrada y a profundidad en nuestro país, ya que solo se encuentran estudios aislados e independientes entre sí, por consiguiente, se requiere la acción integrada para desarrollar una política de sanidad agropecuaria e inocuidad de alimentos para la prevención de las infecciones alimentarias integrando las entidades estatales de vigilancia en salud, alimentos y agricultura.

3.3. MARCO LEGAL

En Colombia la normatividad contempla en el Decreto 3075 de 1997 que la carne, los productos cárnicos, la leche y los derivados lácteos, se encuentran dentro del grupo de alimentos considerados de mayor riesgo en salud pública y se establece que la salud es un bien de interés público, por lo cual se dictan disposiciones contenidas en

decretos de orden público que regulan todas las actividades que puedan generar factores de riesgo por el consumo de estos alimentos (Ministerio de Salud de la República de Colombia, 1997).

En el año 2017 del 14 de agosto mediante circular conjunta No. 0027 del Ministerio de Salud, Ministerio de Agricultura, Instituto Nacional de Salud, INVIMA, Instituto Colombiano Agropecuario ICA y Corpoica, se informa que según estudios realizados por el INS en el año 2016 se han intensificado las acciones de vigilancia en salud pública, vigilancia sanitaria, prevención y control de la transmisión de cepas bacterianas Gram negativas, con resistencia a colistina en Colombia. La colistina es utilizada para infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes. El INS inicio un estudio retrospectivo de 299 aislamientos resistentes a colistina de los cuales se obtuvo 19 positivos con el gen *mcr-1*. Desde el año 2016 Corpoica implemento un modelo de resistencia a antimicrobianos encontrado el gen *mcr-1* en aislamientos de *E. coli* ($n=86$) provenientes de la cadena porcicola (INS, y otros, 2017).

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1. TIPO DE ESTUDIO:

Se realizó un estudio longitudinal en todos los eslabones de la cadena de producción avícola de los perfiles de resistencia antimicrobiana y los factores asociados a *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp, *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* spp. con el monitoreo de la cadena del productor asociado al final de cada ciclo de producción en donde se recolectaron muestras de granjas, plantas de incubación, alimentos concentrados y fuentes de agua, asociadas a la cadena avícola realizando seguimiento a las abuelas procedentes de Brasil hasta el punto de venta. El estudio se realizó entre Marzo de 2013 y Febrero de 2016.

4.2. SITIO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en 4 departamentos: Cundinamarca, Tolima, Bolívar y Atlántico. El departamento de Cundinamarca se encuentra en el centro de Colombia, con una capacidad para reproductoras engorde de 1829444 en 81 granjas. Para la selección de la muestra se tuvo en cuenta la población de aves de la empresa productora de genética avícola la cual se encuentra ubicada en el departamento de Cundinamarca que posee: una (1) granja de abuelas, seis (6) granjas de reproductoras, dos (2) plantas de incubación y una segunda empresa ubicada en el departamento de Bolívar y Atlántico que posee: Una (1) planta de beneficio, cuatro (4) puntos de venta y doce (12) granjas de pollo de engorde, teniendo en cuenta que las empresas pertenecen al mismo propietario existe un compromiso manifiesto por parte del representante legal para participar voluntariamente en el estudio.

4.3. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Teniendo en cuenta todos los eslabones de la cadena de producción avícola se estableció el monitoreo iniciando con la abuelas de raza Cobb procedentes de Brasil y que fueron puestas en cuarentena por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA en la granja El Placer dentro del proceso de importación de material genético.

En las granjas se realizó hisopo de arrastre (n=36) que consistió en zapatones humedecidos con agua peptonada realizando un recorrido en zigzag por todo el galpón. En cada galpón se tomó un pool de muestras de hisopado cloacal uno por cada cinco aves en total 10 hisopos para un total de 50 aves monitoreadas. Igualmente se recolectó una muestra de materia fecal por galpón evitando la contaminación con viruta o cascarilla. La muestra de la cama fue recolectada en diferentes partes del galpón (en superficie, intermedio y profundidad). Al mismo tiempo se tomaron muestras de agua cruda de la fuente de abastecimiento y del agua tratada de las granjas. Se tomaron también muestras en plantas de incubación, en planta de beneficio y en los puntos de venta.

Para el muestreo en la granja de abuelas ubicada en el municipio de Arbeláez fue necesario seguir los protocolos de bioseguridad establecidos por la compañía propietaria de la misma. Estos consistían en cuarentena de 72 horas bajo supervisión, exámenes que confirmaban que la persona que va a ingresar a muestrear no era portadora sana de *Salmonella spp* (coprocultivo) y firmar los registros exigidos. En la granja de abuelas se recolectaron hisopos de arrastre, hisopo cloacal, materia fecal, cama, muestra de agua al ingreso de la planta de tratamiento y agua a la salida de la planta de tratamiento y muestra de concentrado.

En la planta de incubación de reproductoras ubicada en el municipio de Fusagasugá se debió seguir el mismo procedimiento de bioseguridad que el de la granja de abuelas y se tomaron muestras de pollitos de 1 día de los lotes del nacimiento así: se solicitaron 20 pollitos por cada lote, y se obtuvieron muestras en pool de meconio, de saco vitelino, de hígado, bazo y corazón. También se recolectaron muestras de huevos

quedados en bandeja los cuales se procesaron por separado, el contenido y la cáscara. De igual forma se tomaron muestras de agua al ingreso de la planta de tratamiento y a la salida de la misma.

En las granjas de reproductoras ubicadas en municipio de Fusagasugá, las muestras tomadas fueron hisopos de arrastre, hisopos cloacales, materia fecal, cama, muestra de agua al ingreso de la planta, muestra de agua a la salida de la planta y muestra de concentrado.

En la planta de pollo de engorde ubicada en el municipio de Suarez (Tolima) se tomaron muestras de pollitos de 1 día de los lotes del nacimiento, 20 pollitos por cada lote, los cuales fueron sacrificados y se obtuvieron las siguientes muestras en pool de meconio, de saco vitelino, hígado, bazo y corazón. También se recolectaron muestras de huevos quedados en bandeja los cuales fueron procesados (contenido y cascara). De igual forma se tomaron muestras de agua al ingreso de la planta de tratamiento y a la salida de la misma.

En la granja de pollo de engorde ubicada en la ciudad de Cartagena (Bolívar) las muestras tomadas fueron hisopos de arrastre, hisopo cloacal, materia fecal, cama, muestra de agua al ingreso de la planta, muestra de agua a la salida de la planta y muestra de concentrado.

En cada una de las granjas de abuelas, reproductoras y pollo de engorde se muestreo el concentrado que se estaba suministrando para verificar la calidad del mismo.

En la Planta de Beneficio el muestreo realizado fue contenido cecal, prechiller, agua de chiller, agua del área de eviscerado y enjuague.

En el punto de venta se adquirieron cinco presas de pierna pernil de pollo que fueron comprados directamente por el personal que realiza el muestreo.

4.4. TRANSPORTE Y REMISIÓN DE MUESTRAS

Las muestras fueron enviadas en contenedores de icopor con refrigeración al Laboratorio de COIPARS de Corpoica en la ciudad de Bogotá, dentro de las 12 horas siguientes a su recolección, para realizar el procedimiento estandarizado. Las muestras de agua de todos los centros fueron enviadas conservando la cadena de custodia y la refrigeración al Instituto Nacional de Salud donde fueron procesadas.

Las muestras de concentrado fueron procesadas en el laboratorio de Control de Calidad de Incubacol SAS con los procedimientos registrados ante el ICA.

4.5. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Una encuesta (Anexo G) fue diseñada para la recolección de datos de interés epidemiológico como son el manejo sanitario y las prácticas de producción y bioseguridad que permitieron determinar los factores de riesgo potencialmente asociados a la presencia de los microorganismos del estudio. La encuesta se diligencio en cada granja, planta de incubación, planta de beneficio y planta de incubación. Este cuestionario se realizó personalmente al momento del muestreo

En las granjas tuvo en cuenta variables como tipo de granja, altitud de la granja, tamaño, manejo de bioseguridad, tipo de ventilación, tratamiento antimicrobiano de Abuelas, Reproductores y Pollo de engorde, tipo de encasetamiento, limpieza de los galpones, manejo de alimentación, uso de tratamientos profilácticos y terapéuticos y uso de promotores del desempeño.

Las preguntas fueron de falso/verdadero y selección múltiple con excepción de las relacionadas con fechas y números precisos (población y edad). Previamente a la encuesta definitiva se realizaron pruebas piloto del cuestionario tanto en granjas como plantas de incubación y se realizaron las modificaciones correspondientes. Las

respuestas fueron verificadas mediante la observación de evidencia para que la información suministrada fuera veraz.

4.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Teniendo en cuenta que el presente estudio se realiza con muestras biológicas y se hace necesario tener en cuenta lo establecido en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Protección Social, la cual estipula que el proyecto corresponde a un estudio con riesgo mínimo, ya que es prospectivo y se emplea el registro de datos a través de procedimientos comunes como la recolección y procesamientos analíticos de muestras clínicas. De acuerdo a esta misma normatividad, la empresa participante del estudio es previamente informada acerca de los objetivos, los alcances y los posibles hallazgos del estudio.

Los datos obtenidos a partir del estudio, se manejaron con la discrecionalidad que amerita todo estudio amparado por la vigilancia y control en sanidad animal, los hallazgos estadísticos de la empresa participante se entregaron en sobre cerrado únicamente al representante legal.

Las muestras y datos recolectados a partir de los formatos, así como la información generada a partir del estudio son utilizados exclusivamente con fines científicos y solo por los investigadores del Grupo de Investigación y Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana de CORPOICA, bajo ninguna circunstancia los empleadores tendrán acceso a los formatos o a resultados particulares.

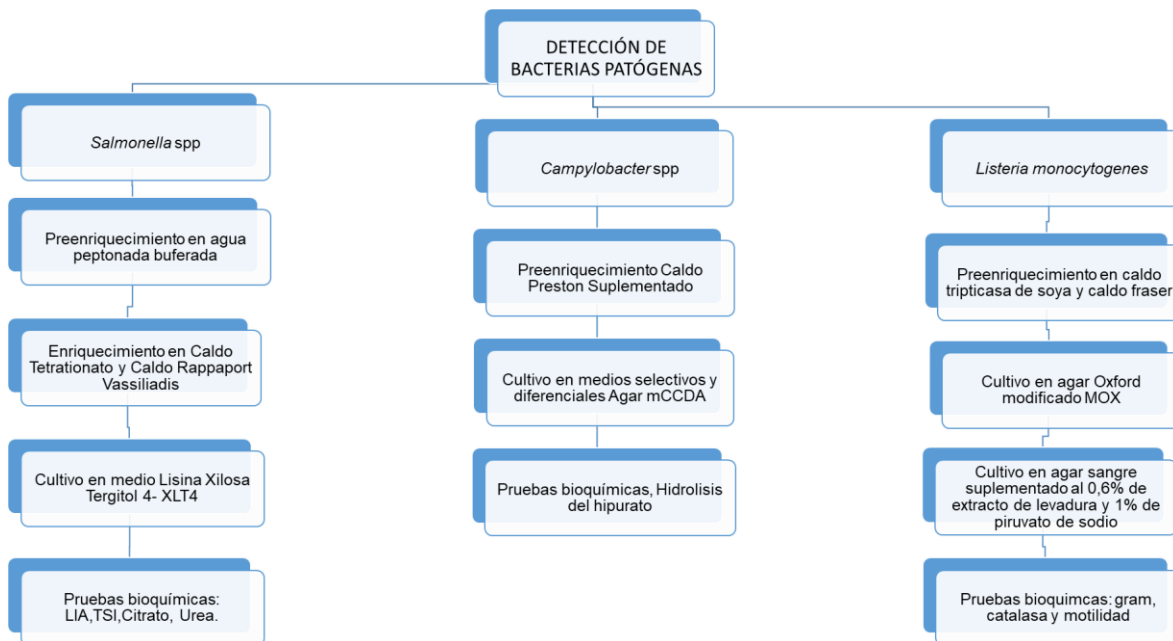
4.7. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL ALCANCE DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.7.1. Objetivo 1. Determinar el perfil de resistencia a los antibióticos en *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.

que circulan en la cadena productiva avícola, aisladas a partir de muestras de hisopos de arrastre, materia fecal, cama, hisopo cloacal, tejidos de pollitos de 1 día, huevos quedados en bandeja, fuentes de agua y muestras de concentrado.

Una vez las muestras se encontraban en el Laboratorio se realizaron las técnicas analíticas estandarizadas por el Grupo Investigación y vigilancia integrada de la resistencia microbiana COIPARS de CORPOICA, para la detección de los microorganismos *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. Todos los procedimientos de detección comprenden varias etapas que se observan la figura No. 2

Figura 2. Etapas de la detección de *Salmonella* spp, *Campylobacteri* spp y *Listeria monocytogenes*



Fuente:(Callejo et al. 2008; OIE, 2012; USDA/FSIS, 2013)

4.7.1.1. Métodos de Aislamientos para la detección de *Salmonella spp.* Para la detección de *Salmonella spp.*, en las muestras de granja se empleó el protocolo establecido en el manual para animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en el capítulo de pulorosis y tifosis aviar (OIE, 2012). Para la detección en muestras de planta de beneficio y punto de venta se empleó la guía de control del Programa de Verificación de *Salmonella* y *Campylobacter* para productos de carnes y aves de corral (USDA/FSIS, 2013).

Controles del Procedimiento: *Salmonella* Typhimurium Cepa ATCC 14028 como control positivo (+).

El preenriquecimiento se realizó mediante la homogenización de la muestra en Agua peptonada Tamponada (BPW) e incubación a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 22 ± 2 horas. (OIE, 2012).

Adicionalmente las muestras que se encontraban en preenriquecimiento fueron analizadas por el Sistema 3M™ de Detección Molecular para Patógenos., Método Oficial avalado por AOAC OMA 2013.09 (Bird *et al.*, 2013). El objetivo de esta prueba es la determinación del ácido nucleico (DNA) la reacción se da amplificación exponencial de material genético blanco o diana. Utiliza la enzima Bst DNA polimerasa; la denaturación del ADN se da por desplazamiento de las hebras por una reacción de temperatura isotérmica a (60°C), la amplificación es continua y la lectura se realiza por bioluminiscencia (Bird *et al.*, 2013).

Las muestras positivas por el método anteriormente citado continuaron con el enriquecimiento en el cual se transfieren 900 microlitros de cultivo a un tubo con 9 ml de medio de caldo tetrionato y 100 μl del cultivo preenriquecido a 9 ml de Rappaport Vassiliadis (RVS, Difco®) (OIE, 2012), (Ver anexo A).

Para los aislamientos de *Salmonella spp.* se realizó la serotipificación siguiendo el esquema de Kauffmann-White-Le Minore que consiste en la identificación y

combinación de antígenos somáticos de superficie (LPS, antígenos O) y antígenos flagelares (proteínas, antígenos H) con el agregado del antígeno capsular Vi (Grimont, 2007).

4.7.1.2. Detección de *Campylobacter spp.* Para la detección de *Campylobacter* se utilizaron las siguientes cepas de referencia como controles positivos para *C. jejuni* ATCC33560 y *C. coli* ATCC3359.

Para las muestras de materia fecal e hisopo cloacal se siguió la metodología establecida por USDA estandarizada por el laboratorio de COIPARS-Corpoica. La muestra fue pre-enriquecida en caldo Preston suplementado, se incubó en condiciones de microaerofilia por 48 horas y una alícuota del pre-enriquecimiento se sembró en medios selectivos y diferenciales, las colonias no hemolíticas planas con bordes irregulares se caracterizaron por pruebas bioquímicas a nivel de especie (Realpe-Delgado, et al., 2016).

Las muestras de concentrado fueron tratadas de la misma manera, pero en lugar de solución de enjuague se emplearon para el pre-enriquecimiento 25g de la muestra. En el caso de muestras de agua se procedió según el nivel de contaminación de la muestra, para aguas de escasa turbidez se filtró 1 litro a través de membranas de 47 mm de diámetro y 0,45 µm de poro. Si el agua era clorada se neutralizó empleando 5 ml de tiosulfato de sodio 1M por litro de agua previo al procesamiento (USDA/FSIS, 2008; USDA/FSIS, 2013).

Para las muestras de carcasa de pollo se realizó una solución de enjuague, siguiendo la metodología propuesta por USDA, posteriormente la muestra es pre-enriqueció en caldo Preston suplementado; se incubó en condiciones de microaerofilia por 48 horas y una alícuota del pre-enriquecimiento se sembró en medios selectivos y diferenciales, las colonias son, no hemolíticas planas con bordes irregulares caracterizadas a nivel de especie bioquímicamente. El procedimiento completo se puede ver en el anexo B.

(USDA/FSIS, 2008; Realpe-Delgado, *et al.*, 2016)

4.7.1.3. Detección de *Listeria monocytogenes*. Para *Listeria monocytogenes* se siguieron las recomendaciones dadas por la Organización Mundial de Salud en el programa de las ETA (Callejo *et al.*, 2008; Realpe-Delgado *et al.*, 2016)

Para las muestras de agua se tomaron 100 ml de la muestra de agua y se mezclaron con 125 ml de caldo tripticasa soya con 0,6 % de extracto de levadura, adicionando con 1% de piruvato de sodio durante 24 h a 35°C y luego seguir el protocolo establecido en USDA-FSIS (2013), revisión 09 MLG en el capítulo 8, y estandarizado por COIPARS-Corpoica. (OIE, 2008; Ver anexo C).

4.7.1.4. Detección de *Escherichia coli*. Para las muestras de granjas, plantas de incubación, plantas de beneficio y punto de venta se realizó la metodología establecida por el Laboratorio del Grupo Investigación y Vigilancia integrada de la resistencia microbiana COIPARS de CORPOICA. El método consistió en colocar el inóculo en placas de Eosina Azul de Metileno (EMB) se realizó cultivo por agotamiento, incubando la placa de Petri a 35°C durante 24 horas, si la placa presento colonias típicas de *Escherichia coli* con brillo metálico se seleccionaron 3 colonias para inocularlas nuevamente en placas de EMB cada una y se incuban nuevamente por el mismo tiempo a la igual temperatura. Confirmado el aislamiento en EMB se eligió una colonia aislada y se inóculo en agar TSA, se inspeccionaba las placas para determinar la pureza de la cepa, si esta no era pura se repetía el procedimiento. De las placas de TSA se realizaban pruebas bioquímicas: SIM, Citrato, TSI (Donado-Godoy, 2010; Ver anexo D). Se empleó *Escherichia coli* Cepa ATCC 25922 como control positivo (+).

4.7.1.5. Detección de *Enterococcus spp.* Para las muestras de Hisopo de arrastre, materia fecal, agua y muestras de concentrado se siguió la metodología establecida por el Laboratorio del Grupo Investigación y vigilancia integrada de la resistencia microbiana COIPARS de CORPOICA.

Luego del preenriquecimiento se inoculaba en caldo enterococcosel, si a las 24 horas hubo crecimiento o el medio viró a color marrón se consideró positivo, luego se inoculó en agar enterococcosel y se incubó durante 24 a 48 horas. Se seleccionan 3 colonias blancas o grises con hemolisis beta y se repicaron cada una en una nueva placa de enterococcosel e incubaron a 35°C por 24-48 horas. Luego se confirmó la pureza mediante transferencia a medio TSA para continuar con pruebas de fermentación de azúcares principalmente la arabinosa y prueba de catalasa (Donado-Godoy, 2010; ver anexo E).

4.7.1.6. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos. Todas las cepas de *Salmonella* spp. fueron analizadas utilizando el método de Phoenix™ de Becton Dickinson, sistema microbiológico automatizado para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) con paneles que contenían según las condiciones propuestas por el fabricante. Se utilizaron los paneles BD Phoenix™ NMIC/ID 121 con antimicrobianos de uso en salud humana y animal con criterios basados en CLSI standards 18 del año 2015 y el Sistema Vitek® 2 Compact (Donado-Godoy *et al*, 2012; Realpe-Delgado *et al*, 2016).

Ceftiofur, enrofloxacin, estreptomycin, cloranfenicol y ácido nalidíxico fueron evaluados mediante el uso de discos por el Método de Kirby Bauer y los resultados son interpretados con base en criterios establecidos por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100-S24), (CLSI, 2015).

Las cepas de *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp fueron analizadas utilizando el método de Kirby Bauer, según los criterios de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100-S24). (CLSI, 2015). Se probaron para cada cepa sensidiscos de Enrofloxacin (ENR: 5 mcg), Doxyciclina (DO: 30 mcg), Gentamicina (GM:10 mcg), Amoxicilina (AML: 10 mcg), Oxytetraciclina (OT: 30mcg), Ciprofloxacina (CIP: 5 mcg), Trimetropim sulfá (SXT: 25mcg), Ceftiofur (EFT:30 mcg), Linezolid (LZD: 30 mcg), Fosfomicina (FOS: 50mcg), Ceftazidime (CAZ: 30 mcg), Vancomicina (Va: 30mcg),

Acido Nalidixico (NA: 30mcg), Kanamicina (K: 30 mcg). La selección de los diferentes antibióticos utilizados se basó en los antibióticos administrados para tratamiento de las aves en la zona.

Brevemente, los inóculos fueron preparados con una turbidez de 0,5 según la escala de McFarland, luego se inocularon las placas de agar Muller – Hinton (Difco ®). Con un hisopo se realizó el inóculo masivo en toda la placa, posteriormente fueron colocados los sensidiscos de los diferentes antibióticos en las superficies de cada placa, e incubadas a 37°C por 24 horas. Los diámetros de las zonas de inhibición fueron medidos e interpretados siguiendo el criterio CLSI M100-S24 (CLSI, 2015).

4.7.2. Objetivo 2. Establecer la relación clonal de los aislamientos de *Salmonella spp.* obtenidos a partir de muestras, en abuelas, reproductoras, plantas de incubación, pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta de la cadena productiva avícola.

Los aislamientos fueron centralizados por el Grupo Investigación y vigilancia integrada de la resistencia microbiana COIPARS de CORPOICA, en donde se realizaron las técnicas de genotipificación y comparación clonal. Se realizó PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) al total de aislamientos de *Salmonella spp* provenientes de todas las fuentes, de acuerdo con el protocolo estandarizado por el Centro para el Control de las Enfermedades (CDC, Atlanta, USA) para la Red de Sub-tipificación Molecular por PFGE llamada Red PulseNet para la vigilancia de las ETA.

La suspensión celular se realizó siguiendo las indicaciones del procedimiento estándar del Instituto Nacional de Salud (INS), iniciando por la toma de la bacteria con un hisopo estéril de la superficie de un cultivo celular fresco no mayor a 24 horas y suspendiendo la carga bacteriana en 2 mL de Buffer de suspensión celular (100 mM Tri, 100 mM EDTA, pH 8.0; BSC). A partir de la suspensión celular concentrada se tomaron 100 µL y se re-suspendieron en 1900 µL de BSC. Luego se determinó la densidad óptica (OD)

mediante el uso del espectrofotómetro Genesys 20 (Thermo Spectronic) a una longitud de onda de 610 nm (Donado-Godoy *et al*, 2012)

Los valores OD resultantes se usaron en la formula, $V_c = 200 / (OD \times 10)$, donde 200 es el volumen final y 10 es el factor de dilución, para obtener como resultado el volumen de suspensión celular concentrada (V_c) necesaria, y se completó con BSC a un volumen final de 200 μ L. Esta suspensión celular (200 μ L) se mezcló inicialmente con 10 μ L de proteinasa K (Promega stock; 20 mg/mL) y posteriormente con 200 μ L de agarosa 1% SKG (SeaKem Gold, Cambrex; Disuelta en BSC y estabilizada a 50°C) y sembrada dentro de los moldes para bloques, 5 minutos a temperatura ambiente y 5 minutos a -20°C.

Luego de la gelificación (polimerización) de los bloques se introdujeron en 5 mL de mix de lisis ((50 mM Tris, 50 mM EDTA pH 8.0, 1% Sarcosyl; BLC) que se prepararon adicionando a 50 mL BLC, 250 μ L de proteinasa K (Promega stock; 20 mg/mL) para 10 muestras en total, se homogenizó mediante vortex. Se incubaron las muestras durante 2 horas a 54 °C, para luego realizar un total de 6 lavados a los bloques; 2 lavados en agitación con 10-15 ml de agua MilliQ a 50°C por 15 minutos cada uno y 4 lavados en agitación con 10-15 ml de TE (10mM Tris: 1mM EDTA, pH8.0) a 50°C por 15 minutos cada uno, los bloques deben ser almacenados en TE pH 8.0 a -4°C.

Para la restricción enzimática, se cortó una sección de 2 mm de cada bloque según el protocolo y se sumergieron en 200 μ L del mix de restricción según protocolo (*Xba*I, Promega) y se incubó a 37°C por 2 horas. Luego se continuó con el procedimiento de corrido electroforético según el protocolo, usando el equipo CHEF-DR III System (Bio Rad Laboratories, Inc) y el foto-documentador Universal Hood II (Bio Rad Laboratories, Inc) con el manejo del programa Quantity One (Bio Rad Laboratories, Inc). Las fotos obtenidas se guardaron en formato TIFF, y fueron analizadas con el software Gel compare II (Applied-Maths) usando como variables estadísticas el coeficiente DICE con

un 1.5% de tolerancia para la posición de la banda y la matriz de agrupamiento UPGMA (Fakhr and Nolan, 2005).

Los patrones clonales de los aislamientos obtenidos fueron comparados contra la base de datos de patrones electroforéticos de *Salmonella* de origen animal y de alimentos, que cuentan con más de 700 aislamientos generada por el Grupo Investigación y Vigilancia Integrada de la Resistencia Microbiana COIPARS de CORPOICA y que está centralizada en el grupo de microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS).

4.7.3. Objetivo 3. Plantear medidas de prevención a implementar en la cadena productiva avícola en Colombia. Antes de iniciar la toma de muestras se realizó una explicación del proyecto en cada una de las granjas, plantas de incubación, planta de beneficio y punto de venta. Durante las 7 charlas que en total se diligenció un formato de asistencia que maneja la compañía.

Luego de obtenidos los resultados se realizó una socialización con el departamento técnico de la compañía de los resultados obtenidos y se dieron recomendaciones sobre bioseguridad y posibles riesgos en todos los eslabones de la cadena avícola.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de los objetivos anteriores, se plantearon estrategias y medidas de prevención y contención de la infección por los microorganismos en estudio y estas se socializaron con la empresa participante en el estudio y sus trabajadores, con las autoridades competentes, a sociedades científicas la comunidad en general, mediante la presentación de los resultados en eventos científicos y publicación de artículos en revistas indexadas.

4.7.4. Objetivo 4. Fortalecer la base de datos del programa Colombiano para la Investigación y Vigilancia Integrada de la Resistencia Antimicrobiana (COIPARS). Los resultados encontrados en el presente proyecto se incluirán en la base de datos y en la colección de cepas de la misma institución.

5. RESULTADOS

5.1. OBJETIVO 1.

Determinar el perfil de resistencia a los antibióticos que tienen diferentes cepas de las bacterias *salmonella* spp, *escherichia coli*, *enterococcus* spp, *listeria monocytogenes* y *campylobacter* spp que circulan en granjas de abuelas, reproductoras, pollo de engorde, plantas de incubación, plantas de beneficio y puntos de venta así como evaluar el potencial de generación de multiresistencia.

Se analizaron 250 muestras recolectadas en los diferentes eslabones de la cadena productiva avícola de abuelas, reproductoras y pollo de engorde, como se puede ver en la tabla 1.

Tabla 1 Número de muestras tomadas y porcentaje de acuerdo a cada eslabón de la cadena avícola

| Eslabones de la cadena avícola | | Número de muestras (%) |
|--------------------------------|----------------------------|------------------------|
| Abuelas | Importación Brasil | 16 (6,4) |
| | Granja de abuelas | 51 (20,4) |
| | Planta de reproductoras | 42 (16,8) |
| Reproductoras | Granja de reproductoras | 66 (26,4) |
| | Planta de pollo de engorde | 18 (7,2) |
| Engorde | Granja de pollo de engorde | 18 (7,2) |
| | Planta de beneficio | 34 (13,6) |
| Distribución | Punto de venta | 5 (2) |
| Total | | 250 |

Los resultados de los aislamientos obtenidos se pueden ver en la Tabla 2.

Tabla 2. Bacterias recuperadas en la cadena avícola.

| Bacteria aislada | Número de muestras Positivas | Porcentaje de Positividad |
|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Salmonella spp</i> | 12 | 4,8% |
| <i>Campylobacter spp</i> | 24 | 9,6% |
| <i>Listeria spp</i> | 2 | 0,8% |
| <i>Enterococcus spp</i> | 107 | 42,8% |
| <i>Escherichia coli</i> | 76 | 30,4% |

Las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus spp* sirven como indicadores de gram positivos y gram negativos en el caso que no se obtengan aislamientos positivos en algun eslabon de la cadena avicola.

En la Tabla 3 se observan los aislamientos obtenidos en cada eslabon de la cadena avicola, el numero de muestras procesadas y la prevalencia obtenida para *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter spp*.

Tabla 3 Distribucion de los aislamientos de bacterias patogenas en los diferentes eslabones de la cadena avicola.

| ESLABÓN | Numero de muestras | <i>Salmonella</i> sp % (#) | <i>L. monocytogenes</i> % (#) | <i>Campylobacter</i> spp. % (#) |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|--|
| Abuelas + incubación | 109 | 0 | 0 | 3% (3) |
| Reproductoras + incubación | 84 | 0 | 0 | 7% (6) |
| Granja de pollo de engorde | 18 | 28% (5) | 0 | 22% (4) |
| Planta de | 34 | 18% (6) | 0 | 32% (11) |

| ESLABÓN | Numero de muestras | <i>Salmonella</i> sp % (#) | <i>L. monocytogenes</i> % (#) | <i>Campylobacter</i> spp. % (#) |
|-----------------------------|--------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| beneficio + desprese | | | | |
| Punto de venta | 5 | 20% (1) | 0 | 0 |
| Total aislamientos | | 12 | 0 | 24 |

Para *Salmonella* spp no hubo aislamientos en abuelas ni en reproductoras. De los aislamientos obtenidos de *Listeria* spp ninguno se clasificó como *Listeria monocytogenes*. En lo que respecta a *Campylobacter* spp. se obtuvo un 32% de aislamiento en planta de beneficio, seguido de un 22% en granja de pollo de engorde. La serotipificación de antígenos Flagelares (H) y Somaticos (O) de los aislamientos de *Salmonella* se observan en la tabla 4.

Tabla 4. Serotipificación de *Salmonella* spp discriminada por cada eslabon eslabón de la cadena avícola.

| Eslabón de la cadena avícola | Serotipo de <i>Salmonella</i> | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------|---------|----------|
| | Heidelberg | Typhimurium | Brezany | Grupo II |
| Granja de Pollo de engorde | 3 | 2 | 0 | 0 |
| Planta de beneficio | 3 | 1 | 2 | 0 |
| Punto de venta | 0 | 0 | 0 | 1 |

En pollo de engorde predominó S. Heidelberg (3) y S. Typhimurium (2), en planta de beneficio Heidelberg (3), Typhimurium (1) y Brezany (2) y en punto de venta de obtuvo un aislamiento perteneciente al grupo II que no fue posible tipificar.

En la tabla 5 se puede ver la distribución de los aislamientos de *Campylobacter* spp obtenidos de acuerdo a los eslabones de la cadena avícola.

Tabla 5 Distribución de los aislamientos de *Campylobacter* spp en la cadena avícola.

| Eslabones de la cadena avícola | Número de muestras | Numero de positivos (%) |
|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Abuelas + incubación | 109 | 3 (3%) |
| Reproductoras + Incubación | 84 | 6 (7%) |
| Pollo de engorde | 18 | 4 (22%) |
| Planta de beneficio + desprese | 34 | 11 (32%) |
| Punto de venta | 5 | 0 |
| Total general | 250 | 24 |
| Prevalencia | | 9,6 % |

Listeria monocytogenes no se encontraron aislamientos en toda la cadena de producción avícola ya que las cepas obtenidas no fueron clasificadas como monocytogenes por esta razón su prevalencia es cero y no se realizó la prueba de resistencia a antimicrobianos. Se obtuvo aislamiento de *Listeria* spp. en planta de beneficio (1) y Punto de Venta (1).

En cuanto al porcentaje de recuperación de bacterias indicadoras gram positivas *Enterococcus* spp. y gram negativas *Escherichia coli* se puede observar en las tablas 6 y 7.

Tabla 6 Distribucion de la recuperacion de *Escherichia coli* en los eslabones de la cadena avicola.

| Eslabón de la cadena avícola | Numero de muestras | Número de positivos (%) |
|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Abuelas + Incubación | 109 | 34(31%) |
| Reproductoras + incubación | 84 | 23(27 %) |
| Pollo de engorde | 18 | 6 (7%) |
| Planta de beneficio | 34 | 12 (35%) |
| Punto de venta | 5 | 1 (20%) |
| Total general | 250 | 76 |
| Prevalencia | | 30,4% |

De *Escherihcia coli* se obtuvo una prevalencia de 30,4% en todos los eslabones de la cadena avicola, el eslabon que mayor prevalencia tuvo fue la planta de beneficio con un 35% seguido de las granjas y plantas de incubacion de abuelas con un 31%.

En cuanto a *Enterococcus spp.* la distribucion de los aislamientos se puede ver en la tabla 7.

Tabla 7. Distribucion de la recuperacion de *Enterococcus spp* en los diferentes eslabones de la cadena avicola y Clasificacicion.

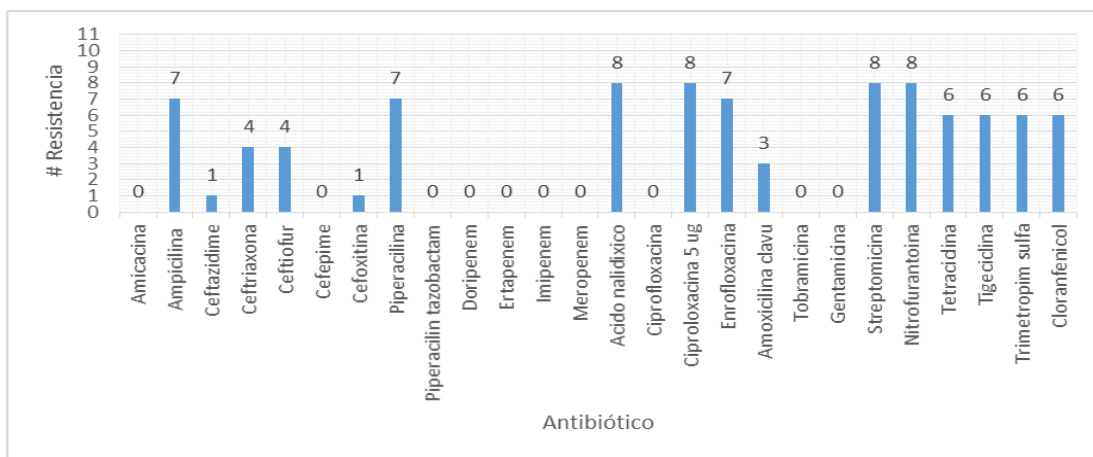
| Eslabón | Total general | <i>E.faecalis</i> % (#) | <i>E.faecium</i> % (#) |
|-----------------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Abuelas + incubación | 109 | 90 % (61) | 10 % (7) |
| Reproductoras + incubación | 84 | 75% (15) | 25% (5) |

| Eslabón | Total general | <i>E.faecalis</i> % (#) | <i>E.faecium</i> % (#) |
|-------------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
| Granja de pollo de engorde | 18 | 100% (6) | 0% |
| Planta de beneficio+ desprese | 34 | 60% (6) | 40% (4) |
| Punto de venta | 5 | 33% (1) | 67% (2) |
| Prevalencia | | 72% | 28% |
| TOTAL Aislamientos | | 83% (89) | 17% (18) |

El *Enterococcus spp* tuvo una prevalencia de 42,8 % con un mayor numero de aislamientos en la granja de abuelas y en la planta de incubacion del 62% seguido del punto de venta con 60%.

El numero de aislamientos de *Salmonella spp.* que presentaron resistencia antimicrobiana se puede observar en la figura 3

Figura 3: Resistencia a los antimicrobianos (ResAm) de los aislamientos de *Salmonella spp.*



Fuente: Autor

Tabla 8 Distribucion de patrones de resistencia antimicrobiana para serotipos de *Salmonella* spp.

| Serotipos de <i>Salmonella</i> | Patrón | Número de aislados resistentes |
|--|--|---------------------------------------|
| <i>Salmonella</i> | CRO-XNL-AMC | 1 |
| Heidelberg | TZP-ENR-TCY-TGC-STX-CHL | 3 |
| | NAL-CIP-STR | 4 |
| <i>Salmonella</i> | AMC-STR | 1 |
| Typhimurium | CRO-XNL | 2 |
| | TZP-NAL-CIP-NIT-TCY-TGC-STX-CHL | 3 |
| <i>Salmonella</i> Brezany | AMP-CAZ-CRO-XNL-FOX-PIP- NAL- CIP-ENR-AMC-NIT | 1 |
| | STR | 2 |
| <i>Salmonella</i> Grupo | STR | 1 |

II

Siglas: CRO:ceftriaxona, XNL:ceftiofur,AMC:Amoxicilina clavulanico,TZP:piperacilina tazobactam,ENR:Enrofloxacin,TCY:Tetraciclina,TGC:tigeciclina,STX:trimeropimsulfa,CHL:cloranfenicol,NAL:acidonalidixico,CIP:ciprofloxacina,STR:streptomicina,NIT:nitrofurantoina.

En cuanto a la ResAm de *Campylobacter* se puede observar en la tabla 8.

Tabla 9. Resistencia antimicrobiana en aislados de *Campylobacter* spp. (n=17)

| Antibiótico | Resistencia Intermedia + Resistencia | % de Resistencia |
|-------------------------|---|-------------------------|
| Ciprofloxacina | 11 | 65 |
| Eritromicina | 10 | 59 |
| Tetraciclina | 10 | 59 |
| Estreptomicina | 10 | 59 |
| Ácido nalidíxico | 15 | 88 |

| | | |
|----------------------|----|----|
| Cloranfenicol | 14 | 82 |
|----------------------|----|----|

De las 17 cepas se determino que el *Campylobacter* presento una mayor resistencia al Acido nalidixico en un 88% seguido del Cloranfenicol con un 82%.

De los 107 aislamientos de *Enterococcus* spp se clasificaron 89 como *E. faecalis* y 18 como *E. faecium*. La ResAm para dichos aislamientos se puede observar en la tabla 10.

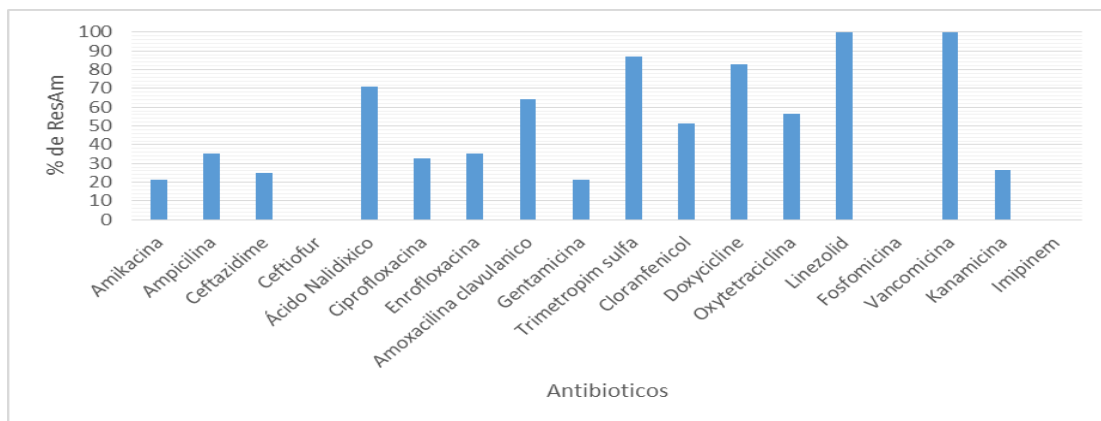
Tabla 10. Resistencia antimicrobiana de los aislamientos obtenidos de *E. faecalis* y *E. faecium*

| Antibiótico | E. faecalis (n=89) (%) | E. faecium (n=18) (%) |
|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Amikacina | 4,5 | 5,6 |
| Ampicilina | 6,7 | 22,2 |
| Ceftazidime | 18,0 | 0,0 |
| Ceftiofur | 15,7 | 33,3 |
| Ácido nalidíxico | 40,4 | 22,2 |
| Ciprofloxacina | 19,1 | 11,1 |
| Enrofloxacina | 31,5 | 27,8 |
| Estreptomina | 52,8 | 61,1 |
| Amoxicilina clavulánico | 39,3 | 55,6 |
| Gentamicina | 33,7 | 27,8 |
| Trimetropim sulfa | 71,9 | 72,2 |
| Cloranfenicol | 0,0 | 0,0 |
| Doxiciclina | 59,6 | 83,3 |
| Tetraciclina | 67,4 | 83,3 |
| Linezolid | 1,1 | 0,0 |
| Fosfomicina | 0,0 | 0,0 |
| Vancomicina | 21,3 | 50,0 |
| Kanamicina | 28,1 | 22,2 |
| Imipinem | 40,4 | 38,9 |

De acuerdo a los resultados anteriores los antibióticos a los que mayor resistencia presentó *Enterococcus* spp. fue Trimetropim sulfá (62%), tetraciclina (59%) y Doxyciclina (55%).

En cuanto a la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* se obtuvieron los perfiles de la figura 4.

Figura 4. Perfiles de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de *Escherichia coli* (n=76)



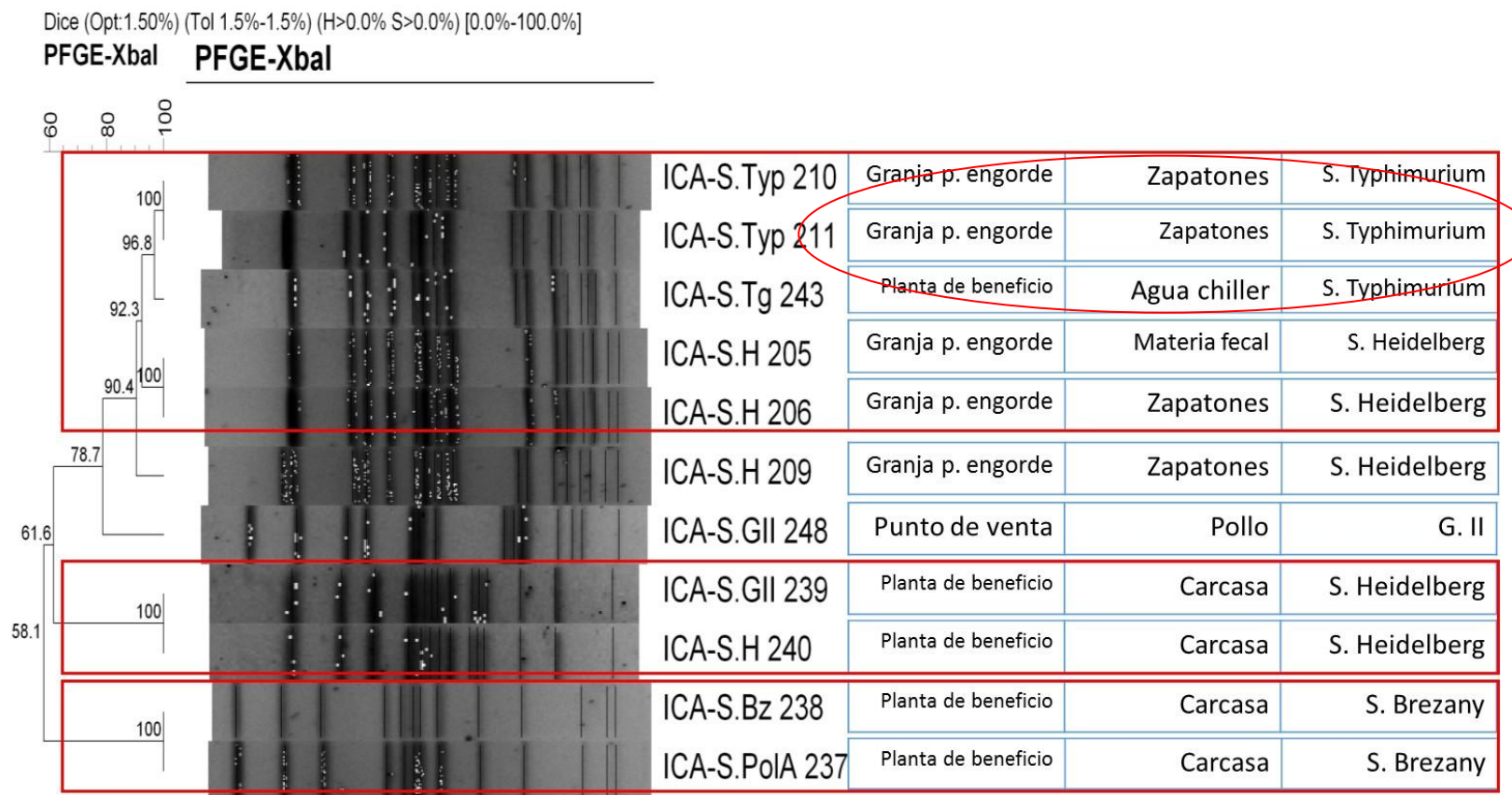
Para *Escherichia coli* se obtuvo una resistencia al linezolid del 100%, trimetropim sulfá del 88,67%, doxiciclina del 84,90% y ácido nalidixico del 77,35%.

5.2. OBJETIVO 2.

Establecer la relación clonal de los aislamientos obtenidos de *salmonella* spp, en abuelas, reproductoras, plantas de incubación, pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta de la cadena productiva avícola.

Para dar cumplimiento con este objetivo se realizó la técnica de genotipificación y comparación clonal mediante PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) al total de aislamientos de *Salmonella* spp.

Figura 5. Dendograma de los patrones de PFGE realizado mediante CHEF DR-III aplicando el coeficiente de similitud de Dice a los aislamientos de *Salmonella spp.*



Fuente: Autor

Los resultados obtenidos a partir del análisis de similitud entre los aislamientos obtenidos de la cadena productiva demostraron que el ADN genómico digerido con la enzima XbaI para los 12 aislamientos de *Salmonella* spp, dieron lugar a bandas (13-18) que se agruparon en patrones de macrorrestricción por PFGE con un coeficiente de similitud entre 58,1 % y 100%. Los geles se analizaron por CHEF DR-III aplicando el coeficiente de similitud de Dice y el dendrograma que se muestra en la figura 5. Este análisis muestra 34 clusters distintos correspondientes a los 4 serovares con un coeficiente de similitud entre 92,3 % y 100%.

En el cluster de las muestras ICA-S Typ 210, ICA-S Typ 211 que fueron aisladas en el eslabon de pollo de engorde (muestra zapatones de arrastre) y serotipificadas como *Salmonella* Typhimurium presentan 15 bandas y la muestra ICA-S Tg 243 (*Salmonella* Typhimurium) aislada de planta de beneficio muestra de agua de chiller presenta 16 bandas lo que indica un coeficiente de similitud 96,8 % y 100% indicando también un posible origen común.

En el cluster que incluye las muestras ICA-S H 205, ICA-S H 206,243,211 y 210, fueron aisladas en el eslabon de pollo de engorde a partir de zapatones de arrastre en galpón y agua de proceso de chiller, lo que sugiere una diseminación desde la granja hasta la beneficio. Estas muestras fueron serotipificadas como *Salmonella enterica* serovar Heidelberg, el aislamiento 209 a pesar que está a 90,4% de los otros, y a pesar que se observa bastante similitud no se puede incluir dentro de este cluster.

Las muestras pertenecientes a los aislamientos obtenidos de la planta de beneficio de carcasa de pollo ICA-S GII 239 y ICA-S H 240 presentan un porcentaje de similitud de 100%, lo que indica que pueden tener el mismo origen, dada la clonalidad identificada.

En el clusters de las muestras ICA-S Bz 238, ICA-S PolA 237 que fueron aisladas en Planta de beneficio en la muestra de postchiller clasificadas como *Salmonella brezany* presentan 13 bandas y no tienen posible origen en otros eslabones de la cadena

avícola. Con una relación clonal de 1.0 (100%) permite ver que la contaminación puede ser recurrente ó tiene nexo epidemiológico (tuberías-cambios de agua de chiller).

Los resultados de PFGE difieren de los resultados encontrados en un estudio realizado en ponedoras en la región central de Colombia donde la *Salmonella* encontrada fue *Salmonella* Shannon y *Salmonella* Enteritidis que presentaron diferentes coeficiente de similitud entre las mismas especies (Rodríguez, et al 2015).

5.3. OBJETIVO 3. PLANTEAR MEDIDAS DE PREVENCIÓN A IMPLEMENTAR EN LA CADENA PRODUCTIVA AVÍCOLA EN COLOMBIA.

La identificación de los factores de riesgo para la portación de los patógenos se basó en la aplicación de una encuesta previamente validada. Las preguntas fueron cerradas y algunas verificadas mediante observación directa. Se recopilaron las encuestas y los hallazgos de laboratorio en una base de datos de Excel y se procesaron por el paquete estadístico SPSS® Statitics versión 2,0. Se trabajaron con variables dependientes e independientes, para establecer la asociación entre variables y determinar los factores de riesgo se efectuó un análisis bivariado empleando chi-cuadrado (recuento de celdas esperadas ≥ 5) o el test exacto de Fischer (recuento de celdas esperadas < 5), teniendo en cuenta la fuerza de asociación con el Odds Ratio (OR) y su respectivo intervalo de confianza del 95%. En un segundo paso se procedió a realizar una regresión logística condicional para ajustar por posibles factores de confusión, y se consideraron como factores de riesgo aquellos con resultados en el análisis de $OR > 1-IC95\%$.; Las pruebas estadísticas se evaluaron a un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$).

Como se observa en la tabla el análisis multivariado mostró asociación estadísticamente significativa para las variables “Inadecuado lavado y desinfección de las manos cada vez que es necesario” ($OR=2,11$; $IC95\%=1,9-2,14$) y falta de análisis de materia fecal en el último año ($OR=3,91$; $IC95\%=1,34-11,41$), que se constituyeron

en posibles factores de riesgo para la presentación del microorganismo por parte de los trabajadores.

De acuerdo a la encuesta aplicada a cada una de las granjas se pueden determinar las siguientes medidas de prevención:

Tabla 11. Factores de riesgo

| VARIABLE | Prueba Wald | OR | P | IC 95% |
|---|------------------------|-----------|----------|---------------|
| No porte adecuado de uniforme | 2,4 | 0,23 | 0,12 | 0,03-1,46 |
| Higiene insuficiente en las manos | 0,59 | 1,58 | 0,44 | 0,49-5,14 |
| Falta de control médico en el último año | 2,21 | 2,27 | 0,13 | 0,77-6,67 |
| Falta de capacitación en medidas de protección | 4,37 | 1,32 | 0,03 | 0,11-1,93 |
| Consumo de alimentos en el área de trabajo | 5,58 | 0,27 | 0,18 | 0,09-0,80 |
| Inadecuado lavado de manos | 2,1 | 2,11 | 0 | 1,9-2,14 |
| No conoce que es "contaminación cruzada" | 1,74 | 1,91 | 0,18 | 0,73-5,04 |
| No disponibilidad de lavamanos dotados con jabón y toallas | 1,42 | 3,92 | 0,23 | 0,41-36,87 |
| No realización de coprocultivo en el último año | 6,27 | 3,91 | 0,01 | 1,34-11,41 |
| Presencia de signos y síntomas como fiebre, vómito, diarrea, escalofrío | 0,62 | 1,51 | 0,43 | 0,53-4,29 |

La presencia en bovinos en una de las granjas pueden de genética avícola puede contribuir a la presencia de *Mycoplasma* o de *Salmonella* por esta razón es mejor que la granja sea dedicada completamente a la avicultura (Anzola, Pedraza & Lezzaca 2008)

La empresa utiliza antibióticos de amplio espectro como la fosfomicina cálcica, ceftiofur sódico, gentamicina, trimetropim sulfacoloro y ciprofloxacina en el alimento para las reproductoras, el uso de antibióticos como promotores de crecimiento ha generado críticas y presiones legales debido a que estos agentes pueden ser los causantes del aumento de resistencias a antimicrobianos lo cual puede presentar trazas y al ser consumidos por el ser humano (Avila, Garcia, Garcia y Menocal, 2005) (Ortiz, 2014)

En la granja de pollo de engorde se utiliza el halquinol como promotor de crecimiento el cual está registrado ante el ICA en la circular 28-08-98, pero la OMS recientemente prohibió el uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento, ya que los promotores de crecimiento no reemplazan los nutrientes ni los alimentos, únicamente dirigen eficientemente los procesos metabólicos facilitando el anabolismo y la fijación de proteínas. Los antibacterianos promotores de crecimiento, han sido utilizados para mejorar la productividad y disminuir la incidencia de las enfermedades en veterinaria; sin embargo han sido motivo de polémica a nivel internacional debido a que se pueden desarrollar resistencias microbianas y estas a su vez sean transmitidas al hombre quien finalmente lo consume, por tal razón su uso en veterinaria como mejorador de la eficiencia ha sido prohibido en ciertos países (Ortiz, 2014)

En las plantas de incubacion se aplican antibióticos como ceftiofur y gentamicina los cuales pueden ocasionar organismos resistentes, por esta razon el ceftiofur fue prohibido por el ICA para ser aplicado en pollitos de 1 dia.

5.4. OBJETIVO 4. FORTALECER LA BASE DE DATOS DEL PROGRAMA COLOMBIANO PARA LA INVESTIGACIÓN Y VIGILANCIA INTEGRADA DE LA

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (COIPARS).

Los resultados de los perfiles de resistencia antimicrobiano quedaron bajo la custodia de COIPARS para que puedan ser parte del macroproyecto titulado Epidemiología de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* y *Campylobacter spp.* en la cadena productiva avícola de dos regiones de Colombia y con recursos de Colciencias para comparar con los resultados obtenidos en otras cadenas de producción y en las Enfermedades Transmitidas por Alimentos.

6. DISCUSIÓN

Este estudio evaluó los perfiles de resistencia en bacterias patógenas como *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes* y bacterias indicadoras de resistencia como *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp aisladas (abuelas, plantas de incubación, reproductoras, pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta) en una empresa de genética avícola ubicada en el departamento de Cundinamarca, Tolima y Atlántico. A conocimiento del autor, no existen estudios en Colombia que hayan evaluado la presencia de estas bacterias así como los perfiles de resistencia antibiótica en los primeros eslabones de la cadena avícola (abuelas y reproductoras), no obstante Donado-Godoy (2010) realizó un estudio similar en pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta. De igual forma existen reportes en aves de postura por Rodríguez en el 2015.

La prevalencia obtenida en todos los eslabones de la cadena avícola para *Salmonella* spp fue del 4,8 %, distribuidos en los eslabones finales de la producción avícola, pollo de engorde (n=5), planta de beneficio (n=6) y punto de venta (n=1) es diferente a la obtenida por Donado-Godoy (2010) en granjas avícolas (pollo de engorde) de Cundinamarca y Santander que fue del 40%. En estudios realizados por Rodríguez, et al, (2015) en granjas de postura se obtuvo una prevalencia 33,33%.

Estudios realizados por Pulido-Landinez, et al, (2014) en ponedoras comerciales, encontraron *Salmonella* enterica, en los departamentos de Cundinamarca, Santander, Bolívar y San Andrés, siendo aislada de tejidos como hígado, corazón, folículos ováricos e hisopos de arrastre. Ninguno de los serotipos aislados coincide con los encontrados en el presente trabajo.

La *Salmonella* es causante de enfermedades diarreicas transmitidas por alimentos en seres humanos y se asocia con el consumo de productos avícolas. En los últimos años

ha sido una preocupación para la salud pública por el desarrollo de la resistencia a antimicrobianos, reduciendo los antibióticos disponibles para el tratamiento de las enfermedades en humanos y animales (Donado-Godoy, et al, 2012).

En los primeros eslabones de la cadena avícola como son abuelas y planta de incubación de reproductoras no se encontraron aislamientos, esto puede deberse al estricto esquema de bioseguridad que poseen las granjas y la planta ya que para ingresar se debe tener una cuarentena de 72 horas durante las cuales realizan visita domiciliaria de bioseguridad y exigen exámenes de coprocultivo y cultivo de hisopado de manos para determinar posibles portadores sanos, de ser detectados no se permite el ingreso a la granja de abuelas ni a la planta de incubación de reproductoras de acuerdo a lo establecido en el manual de bioseguridad de la empresa. En pollo de engorde predominó *S. Heidelberg* y *S. Typhimurium* y en punto de venta se obtuvo un aislamiento perteneciente al grupo II que no se logró tipificar y se congeló para estudios posteriores.

En las muestras de agua se obtuvo *Salmonella* Saphra, las cuales fueron procesadas por el INS en el laboratorio de microbiología y permanecen allí para posteriores estudios.

El serotipo de *Salmonella* predominante fue Heidelberg (50%) aislado de granja de pollo de engorde en planta de beneficio. Este serotipo es de importancia en salud pública y se han reportado brotes en humanos asociados al consumo de pollos contaminados en las plantas de beneficio, en los cuales 131 personas fueron infectadas en 13 estados de Estados Unidos con un 31% de ellas hospitalizadas, pero sin reporte de mortalidad (CDC, 2013). Por otra parte, Donado-Godoy (2012) encontró *S. Heidelberg* en el departamento de Cundinamarca (18,2%) y Santander (25,8%). También se reportó un brote de *S. Heidelberg* en un Centro Correccional, dos (22%) de nueve personas enfermas fueron hospitalizadas y no se reportaron muertes, los

epidemiólogos confirmaron que 33840 libras de pollo estaban contaminados (CDC, 2014).

La *Salmonella* Typhimurium fue aislada en un 25 % en granja de pollo de engorde y planta de beneficio en el año 2013, el CDC reportò un brote de *Salmonella* Typhimurium en 39 estados de Estados Unidos, 240 personas enfermas de las cuales se dispone de información, 62 (26%) fueron hospitalizados, el 57% de las personas enfermas eran niños de 10 años de edad o menos. El 76% por ciento de los enfermos informó el contacto con aves de corral vivas en la semana antes del inicio de su enfermedad. El 95% de las personas enfermas informaron la compra de aves de corral vivas en las tiendas de alimentación agrícolas. Las investigaciones de rastreo identificaron 18 criaderos de aves de corral, el estudio epidemiológico establece la contaminación por contacto con aves vivas (CDC, 2013).

Los resultados de PFGE difieren de los resultados encontrados en un estudio realizado en ponedoras en la región central de Colombia donde la *Salmonella* encontrada fue *Salmonella* Shannon y *Salmonella* enteritidis que presentaron diferentes coeficiente de similitud entre las mismas especies (Rodríguez, et al 2015).

Como se puede observar las *Salmonella spp.* aisladas presentan una resistencia del 72,7% a estreptomicina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, nitrofurantoina y del 63,6% a ampicilina, piperacilina, enrofloxacina, siendo mucho mayores que los encontrados por Donado-Godoy (2010) quien obtuvo una resistencia a la ciprofloxacina del 41,2%, enrofloxacina del 56,9% y al ácido nalidíxico del 64,7%, siendo estas las quinolonas de primera y segunda generación utilizadas como tratamiento inicial en salmonelosis humana (GREBO, 2010).

En la planta de incubación de la empresa en estudio se aplica al día 1 de edad gentamicina para evitar infección en los pollitos durante los primeros 8 días con bacterias gram negativas, en este estudio obtuvimos un 100% de sensibilidad a este

antimicrobiano, es importante continuar realizando monitoreos ya que puede empezar a generar resistencia como lo demuestra Quesada et. al, (2016), analizando publicaciones entre los años 2003 y 2014 de aislamientos de *Salmonella* spp y su resistencia antimicrobiana donde el 95% eran asociados infecciones de origen animal y presentaban resistencia a gentamicina.

En las granjas de producción cuando se aísla *Salmonella* spp el antibiótico que utiliza es el cloranfenicol y la ampicilina los cuales concentran su acción en el sistema linfático, durante el estudio se observó una resistencia del 54,5% para el cloranfenicol y del 63,6% para la ampicilina lo que demuestra que estos antimicrobianos tienen una baja acción sobre la bacteria. Otra práctica que utilizan en avicultura para el tratamiento de portadores crónicos de *Salmonella* es utilizar ampicilina o amoxicilina, como lo demostro Salyers (2002) que la bacteria tiene una alta resistencia a la ampicilina (63,6%) y a la amoxicilina-clavulánico (27,3%).

La resistencia que presentó la *Salmonella* spp a ceftiofur (36,4%) se obtuvo en este estudio es comparable con la descrita en estudios anteriores por Donado-Godoy (2015) con un valor del (94,1%). Este antimicrobiano es utilizado en las plantas de incubación de la compañía por solicitud de los clientes para aplicarles a los pollos de engorde de 1 día antes de ser entregados en granja.

Salmonella es la bacteria frecuentemente aislada causante de brotes en ETAs y como segundo agente notificado el *Campylobacter* spp en la Unión Europea y Estados Unidos; por las exigencias del cultivo no se hace frecuente la investigación como lo reporta Michanle (2015). La prevalencia de *Campylobacter* spp. promedio obtenida fue del 16% observando que la planta de beneficio fue el eslabón con mayor presencia de *Campylobacter* spp (32%). Lo anterior se correlaciona con el documento emitido por el Instituto Nacional de Salud (INS) y el Ministerio de Protección Social el cual reporta que la prevalencia en canales de pollo supone un alto riesgo de transmisión directa para los consumidores (INS, 2013).

El *Campylobacter* posee resistencia natural a varios antibióticos, entre ellos están: aztreonam, novobiocina, estreptograminas, trimetoprim y glicopéptidos. *Campylobacter jejuni* y *C. coli* son resistentes de forma natural a cefalosporinas de primera generación. Como se demostro en el presente estudio (Castañeda et. al, 2013). En los ultimos años se ha reportado la resistencia a *Campylobacter* a un gran numero de antibióticos entre los que se encuentran la eritromicina, ciprofloxacina, kanamicina, ácido nalidíxico y cloranfenicol que son los antibióticos de elección en entornos clinicos de pacientes humanos (INS,2013).

La carne de pollo presenta actualmente la mas alta prevalencia y la mayor fuente de campilobacteriasis para los humanos. Según las estadísticas de la Federacion Nacional de Avicultores de Colombia (FENAVI), el consumo de pollo por persona en Colombia ha venido incrementado en los ultimos 12 años presentando un consumo de 14,2 kg en el año 2000 y terminando en el 2011 con un consumo de 23,8 kg (FENAVI, 2012), por lo tanto a medida que la prevalencia es más alta el riesgo aumenta.

Los *Enterococcus* han llamado la atencion en los ultimos años como causa de infecciones intrahospitalarias debido al aumento de su resistencia a una gran variedad de antimicrobianos. Como se puede observan en la tabla 11 el antibiotico que mayor resistencia presento para *Enterococcus* spp fue el trimetropim sulfa, seguido de la tetraciclina y de la doxiciclina. La resistencia obtenida en este estudio esta acorde con lo reportado por Cercenado (2011) en relacion al trimetropim sulfa.

En los humanos las especies aisladas más frecuentemente son *E. faecalis* y *E. faecium* pues son ambas reportadas en aproximadamente el 90% de los aislamientos clínicos. Otras especies como *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* y *E. avium* se aislan en menor proporción (Rodriguez, 2013).

En el presente estudio *Escherichia coli* presentó una alta resistencia a los antibióticos trimetropim sulfa (86,8%) y doxiciclina (82,9%) lo cual se correlaciona con el estudio

realizado por Astaiza Martinez et.al (2014), donde se evidencia que en la industria avicola del pollo de engorde se realiza sobredosificacion y subdosificacion de antibioticos en el municipio de Pasto departamento de Nariño, utilizando las dosis subterapeuticas para tratamientos preventivos sin seguir los lineamientos dados en la resolucion ICA 1966 de 1984 en el cual se prohíbe el uso de promotores de crecimiento para los antibioticos que se utilizan con fines terapeuticos en medicina humana y animal.

Una observacion preocupante para salud pública es el hallazgo de resistencia a antimicrobianos que se tienen como segunda elección cuando no actúan los de elección como son Linezolid (100%) y ácido nalidíxico (100%), cabe resaltar que la resistencia presentada a la vancomicina es de tipo endógeno ya que todos los gram negativos presentan resistencia natural a este antibiótico; *Escherichia coli* presentó 3 antibióticos con sensibilidad del 100% para ceftiofur, fosfomicina e imipinem.

En estudios realizados por Arathy et al., (2011) se encontró que la mayor resistencia a antibióticos en los aislamientos encontrados era para tetraciclina (58,6%), ampicilina (20%) contrario a lo encontrado en este estudio que la mayor resistencia fue al linezolid del 100%, trimetropim sulfá del 88,67%, doxicilina del 84,90% y ácido nalidíxico del 77,35%.

7. CONCLUSIONES

El presente estudio permitió evaluar microbiológicamente los eslabones de la cadena avícola (abuelas, reproductoras, pollo de engorde, planta de beneficio y punto de venta) en Colombia y determinar los perfiles de resistencia a los antimicrobianos utilizados en la industria. En los primeros eslabones de la cadena avícola no se encontraron aislamientos de *Salmonella spp* lo que demuestra que la bioseguridad a este nivel evita su ingreso.

El estudio fue longitudinal en toda la cadena productiva avícola realizando el seguimiento al lote de abuelas procedentes de Brasil desde el aeropuerto internacional el Dorado de la ciudad de Bogotá, se obtuvo un total de 250 muestras de las cuales se aisló *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Enterococcus spp* y *Escherichia coli*, no se obtuvo aislamiento de *Listeria monocytogenes* en ninguno de los eslabones de la cadena avícola.

La prevalencia obtenida en todos los eslabones de la cadena avícola para *Salmonella spp* fue del 4,8%, distribuidos en los eslabones finales de la producción avícola, pollo de engorde (n=5), planta de beneficio (n=6) y punto de venta (n=1) diferente a los encontrados por Donado Godoy (2010) en granjas de pollo de engorde que fue del 40% y a la encontrada por Rodríguez et al., (2015) en granjas de postura del 33,33%.

Los serotipos de *Salmonella spp*. que predominaron en la cadena avícola fueron en granjas de pollo de engorde *S. Heidelberg* (3) y *S. Typhimurium* (2), en planta de beneficio *S. Heidelberg* (3), *S. Typhimurium* (1) y *S. Brezany* (2) y en punto de venta se obtuvo un aislamiento perteneciente al grupo II que no fue posible tipificar. La *Salmonella* que se aisló en las muestras de agua de la Planta de pollo de engorde fue *S. Saphra*, la cual no está relacionada con los aislamientos en los otros eslabones de la cadena.

Campylobacter spp. presentó una alta resistencia al ácido nalidíxico (88%) las cuales pueden corresponder a cepa de *Campylobacter jejuni* resistentes a este antimicrobiano el cual sirve para clasificar los serogrupos (Rivera et al, 2011), la planta de beneficio sigue siendo el eslabon en el cual se presenta mayor presencia de *Campylobacter* spp.

La resistencia que presentaron las bacterias indicadores para gram positivos y gram negativos ha ido aumentado y la posible causa es el uso indiscriminado de antibioticos en la industria avicola y la inclusion en el alimento como promotores de crecimiento.

Todos los aislamientos identificados en este estudio presentan resistencia a multiples antibioticos.

RECOMENDACIONES

Se debe continuar con estudios de resistencia antimicrobiana en todas las cadenas de producción animal ya que utilizan el mayor número de antibióticos ya sea como promotores de crecimiento o para el control de enfermedades en la producción.

Realizar la relación clonal de los aislamientos obtenidos en la cadena avícola con los aislamientos que se obtengan en otras cadenas de producción y a su vez con resultados que posea el Instituto Nacional de Salud en el área de humanos.

Realizar un estudio para verificar la resistencia que presenta la *Escherichia coli* al Linezolid y al trimetropim sulfato ya que son fármacos de elección en medicina humana.

Realizar estudios de resistencia antimicrobiana teniendo en cuenta los factores de riesgo en todas las cadenas de producción animal.

REFERENCIAS

- Aguilera, M. (2014). *Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: Instituciones, organizaciones y tecnología*. Cartagena, Bolívar,: Banco de la Republica de Colombia.
- Alfredson, D., & Korolik, V. (2007). Alfredson, Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Food Control*.
- Allos Mishu, B. (2001). *Campylobacter jejuni* Infections. *Update on Emerging Issues and Trends Clinical Infectious Diseases*, 32, págs. 1201–1206.
- Ang, C. Y. (1999). Axonal variant of Guillain-Barre´ syndrome associated with *Campylobacter* infection in Bangladesh. Rapidly progressive, predominantly motor Guillain-Barre´ syndrome with anti- GalNAc-GD1a antibodies. *Neurology*, 53(6).
- Angulo FJ, B. N. (2004). Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. . *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 15, 8. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases* , 15.
- Antilles, N., Blanco, A., Camprubi, Q., & Jove, R. y. (2014). Analisis de resistencias a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en aves en España de 1998 a 2013. *Centre de Sanitat Avicola de Catalunya*.
- Anzola, H., & Pedraza, H. y. (2008). *Las buens prácticas de bioseguridad en granjas de reproducción aviar y plantas de incubación*. Bogotá DC: Imprenta Nacional de Colombia. ICA.
- Arathy, D., Vanpee, D., Belot, G., Mathew, V., DeAllie, C., & Sharma, R. (2011). Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Commercial Chicken Eggs in Grenada, West Indies. *West Indian Med J* , 60(1), 53.
- Avila, E., Garcia, A., Garcia, F., & Menocal, J. y. (2005). Efecto de paredes celulares (*Saccharomyces cerevisiae*) en el alimento de pollo de engorda sobre parametros productivos. *Técnica Pecuaria mexicana*, 155-162.

- Bender, Hedberg, Boxrud, Besser, Wicklund, & KE, S. (2001). Use of molecular subtyping in surveillance for *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *New England Journal Medical*, 344, 189-195.
- Bernal, J., Diaz, P., León, M., Montaña, A., Clavijo, A., Rodriguez, C., & et.al. (2012). Comparación de patrones de electroforesis de campos pulsados (PFGE) entre aislamientos de *Salmonella* spp. recuperados de carne de pollo en puntos de venta y muestras clínicas humanas en Colombia. *Memorias VIII, encuentro nacional de investigación en Enfermedades Infecciosas*.
- Bille, J. (1990). Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak. *Elsevier, Amsterdam.*, 71-74.
- Bird, P., Fisher, K., Boyle, M., Huffman, T., Benzinger, J., Bedinghaus, P. J., . . . Crow. (2013). Evaluation of 3M Molecular Detection Assay (MDA) *Salmonella* for the Detection of *Salmonella* in Selected Foods: Collaborative Study. *Journal of AOAC international*, 96(6), 1-11.
- Boulianne, M. (2013). Enfermedades bacteriana. En P. Villegas, *Manual de enfermedades de las aves* (P. Villegas, Trad., Vol. VII, pág. 89). Jacksonvill, Florida, Estados Unidos: Asociacion Americana de Patologos Aviares, Inc. Recuperado el Octubre de 2016, de <http://www.aaap.info>
- C.H. Rodriguez, C. V. (ene./marz. de 2013). Enterococcus spp.: Resistencia antimicrobiana en infecciones intrahospilarias. *Acta bioquim. Clin, latinoame.*, 47(1).
- Callejo, R. (2008). Estudio mediante PCR múltiple de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*(4), 40.
- Campylobacteriosis, salmonellosis. (2008). *Annual epidemiological report on commnunicable diseases in europe*, 177-122, 162-167.
- Castañeda, M. d., Braña V., D., Cortes, C. R., & Martinez V., W. (Octubre de 2013). Calidad Microbiologica de la carne de pollo. *Sagarpa*, 1-81.

- Castañeda, M. d., Braña, D., & Cortés, C. y. (2013). *Calidad microbiologica de la Carne de Pollo*. Universidad Autonoma de Mexico UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Mexico DC: Dr. Diego Braña Varela.
- Castañeda, M. d., Braña, D., Cortés, C. R., & Martinez, W. (2013). *Calidad Microbiologica de la Carne de Pollo*. Mexico: Conacyt. Obtenido de www.unam.mx
- Castañeda, S. (Junio de 2006.). <http://hdl.handle.net/123456789/202>. Recuperado el 2012, de Retrieved from <http://hdl.handle.net/123456789/202>.
- Cercenado, E. (2011). Enterococcus: Resistencia fenotípica y genotípica y epidemiología en españa. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 29((supl5)), 59-65.
- CIPARS, C. C. (2007). *CIPARS, C. C. I. P. f. A. R. S.* Guelph, ON: Government of Canada: CIPARS, C. C. I. P. f. A. R. S.
- CLSI. (Enero de 2015). www.clsi.org. Recuperado el 27 de febrero de 2017
- Cota-Rubio, E., Hurtado-Ayala, L., & Perez-Morales, E. y.-J. (mayo de 2014). Resistencia a antibioticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humnao. *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
- Crespo, M., & J., V. (1999). Aislamiento de Listeria monocytogenes en un hospital de tercer nivel. *Colombia Médica*, 89-90.
- Donado Godoy, P. (2010). Donado-Godoy, P. (2010). Prevalence, Resistance Patterns and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Poultry Farms and Retail Chicken Meat in Colombia and Molecular Characterization of Salmonella Paratyphi B and Salmonella Heidelberg. PhD, Graduate G. *Prevalence, Resistance Patterns and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Poultry Farms and Retail Chicken Meat in Colombia and Molecular Characterization of Salmonella Paratyphi B and Salmonella Heidelberg*. (págs. Donado-Godoy, P. (2010). Prevalence, Resistance Patterns and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Poultry Farms and Retail Chicken Meat in Colombia and Molecular Characterization of Salmonella Paratyphi B and Salmonella Heidelberg. PhD, Graduate G). California: University of California Davis.

- Donado, P., Gardner, I., Byerne, B., Leon, M., Perez-Gutierrez, E., Ovalle, M. V., & Tafur, M. a. (3 de January de 2012). Prevalence, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance Profiles of Salmonella from Commercial Broiler Farms in Two Important Poultry-producing regions of Colombia. *Journal of Food Protection*, 75(5), 874-883.
- Donado-Godoy, P., Castellanos, R., Leon, M., Arevalo, A., Clavijo, V., Bernal, J., . . . Smith, W. a.-G. (2015). The Establishment of the Colombian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (COIPARS): A Pilot Project on Poultry Farms, Slaughterhouses and Retail Market. *Zoonoses and Public Health*, 62, 58-69.
- Donado-Godoy, P., Clavijo, V. L., Tafur, M., Gonzales, S., Hume, M., Alali, W., . . . Lo Fo wong, D. a. (2012). Prevalence of Salmonella on Retail Broiler Chicken Meat Carcasses in Colombia. *Journal of food protection*, 75(6), 1134-1138.
- Fakhr, M., & Nolan, L. &. (2005). Multilocus sequence typing lacks the discriminatory ability of pulsed-field gel electrophoresis for typing Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Journal Clinical Microbiology*, 2215-2219.
- Fantelli K., R. S. (2001). Prevalence and characteristics of Shigatoxin-producing Escherichia coli and Listeria monocytogenes strains isolated from minced meat in Switzerland. *International Journal Of Food Microbiology*, 70(7).
- FAO, O. (2016). *Informe de actividades de INFOSAN 2014/2015*. OMS.
- FENAVI, F. N. (marzo de 2012).
http://www.fenavi.org/fenavi2012/index.php?option=com_con. Obtenido de
http://www.fenavi.org/fenavi2012/index.php?option=com_con
- FENAVI, F. N. (03 de 02 de 2012). <http://www.fenavi.org/index.php?> Recuperado el 2017, de
http://www.fenavi.org/index.php?option=com_content&view=article&id=2160&Itemid=556#magictabs_qevzs_1.

- Forbes, K., Gormley, F., Dallas, J., Labovitiadi, O., MacRae, M., & Owen, R. e. (2009). Campylobacter Immunity and Coinfection following a Large Outbreak in a Farming Community. *Journal Clinical Microbiology*, 111-116.
- Gallegos, J. (2007). . Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos costeños. *Revista MVZ Córdoba* , 996-1012.
- Garza-Velasco, R., Hernandez-Acosta, K., & Chavez-Mejia, A. (2014). *Los factores de virulencia y la actual importancia clinica de Enterococcus faecalis*. Departamento de Biología Facultad de Química UNAM, Mexico. Obtenido de <http://depa.fquim.unam.mx/bacteriologia/pdfs/ART%20CDC-Enterococcus.pdf>
- Gibreel A, S. O. (1998). High-Level Resistance to Trimethoprim in Clinical in Clinical isolates of campylobacter jejuni by acquisition of foreings genes (dfr1 and dfr9) expressing Drug-intensitive dihydrofolate reductases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(12), :3059–64.
- Giron, J. y. (2003). Tratamiento de la Infecciones por Enterococcus. *Revista Clinica Especializada*, 203(10), 482-485.
- Giron-Gonzalez, J. y.-C. (2003). Tratamiento de las infecciones por enterococo. *Revista clinica especializada*, 203(10), 482-485.
- Gonzales Juarez, A. (2008). http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2672.pdf. Recuperado el Mayo de 2012, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2672.pdf.
- Grimont, P. A.-X. (2007). *Who collaborating centre for reference and research on Salmonella*. (I. Pasteur, Ed.) Obtenido de <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadre/cnr/salmoms-index>.
- Grupo para el Control de la Resistencia Bacterina de Bogotá, GREBO. (2010). *Manual de actualizacion en resistencia bacteriana y normas CLSI M100-S20. SDS*. Bogota, DC.: Alcaldia de Bogotá.
- Gutiérrez Castillos, A. d., & Martinez Paasch, H. L. (2008). Salmonelosis y Campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Veterinaria y Zootecnia*, 39(9).

- Hayath, K., Muthu, E., Shankar, Ramachandran, Rajan, & Appasamy, V. a. (2007). Prevalence of *Campylobacter jejuni* and enteric bacterial pathogen among hospitalized HIV infected versus non-HIV infected patients with diarrhoea in southern India. *Scand Journal Infection Diseases*, 39(10), 862-866.
- He Yan, S. B., Mo, Z., Wenying Guan, Shen, Z., Zhang, S., Li, L., . . . Zhong, L. S. (2010). Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China. *International Journal of Food Microbiology*, 144(7).
- Hernando, A., Garcia, C., Alfonso, C., & Capita, R. (2011). Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. *Food Control*, 23(5).
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>. (s.f.).
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>.
- INFOSAN. (2005). Resistencia antimicrobiana a la Salmonella. . *Resistencia antimicrobiana a la Salmonella. Nota de Información INFOSAN 3*.
- INS, & INVIMA. (2008). *Estudio de prevalencia de enteropatógenos: Salmonella, Listeria y Staphylococcus aureus en alimentos de alto riesgo para la salud pública, lácteos y cárnicos. IQEN*. Instituto Nacional de Salud e INVIMA. Bogota: INS-INVIMA.
- INS, I. N. (2013). <http://www.ins.gov.co/>. Obtenido de <http://www.ins.gov.co/>.
- INS, ICA, INVIMA, Corpoica, Minsalud, & Minagricultura. (2017). *Circular 00027*. Bogota: Ministerio de Salud.
- Instituto Nacional de Salud. (2015). *Enfermedades Transmitidas por Alimentos y Vehiculizadas por el agua*. Instituto Nacional de Salud, Direccion de Vigilancia y Analisis de Riesgo . Bogota: INS. Recuperado el 2015, de <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20osemana%2045.pdf>

- Instituto Nacional de Salud, I. (2013). *Perfil de riesgo: Campylobacter spp. en pollo de engorde*. Gestión de Riesgos. Bogota, DC: Imprenta Nacional de Colombia.
- I-sanna Gibbons, A. A., & Rahaman., N. S. (2006). Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria* spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad. *Food Microbiology*, 23(8).
- Jacobs, B., Hazenberg, M., Doorn, v., & Endtz, H. a. (2007). Cross-reactive antibodies against gangliosides and *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides in patients with Guillain-Barre´ or Miller Fisher syndrome. *Journal Infect Diseases*(175), 729-733.
- Jeffrey, A. (2001). Prevalencia de *Campylobacter* spp. En la piel, buche e intestino de carcasa de pollos de engorde durante el procesamiento. *Department of population, health and reproduction/laboratory, veterinary Medicine Teaching and Research Center University of California*.
- Kapperud G, L. J., & Ostroff SM, A. S. (1992). Clinical features of sporadic *Campylobacter* infections in Norway. *Scand J Infect Dis* , 741.
- Karakolev, R. (2009). Incidence of *Listeria monocytogenes* in beef, pork, raw-dried and raw-smoked sausages in Bulgaria. *Food Control*.
- Kathryn, T., Young, L., & M. Davis and DiRita, V. (2007). *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Journal of Molecular biology*.
- Liu, D. (2008). Preparation of *Listeria monocytogenes* specimens for molecular detection and identification. *International Journal of Food Microbiology*, 122(14).
- López, V., Ortiz, S., Lopez, P., Navas, J., & Suárez, M. (2008). Molecular tracking of *Listeria monocytogenes* in an Iberian pig abattoir and processing plant. *Meat Science*, 78(5).
- Lukinmaa, S., Nakari, U., & Eklund, M. &. (2004). Application of molecular genetic methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. *Apmis*, 112, 908-929.
- Macari, M. (2005). Manejo de Matrices de corte. *FACTA fundacao APINCO de ciencia e tecnologia avícolas*.

- Maiden, M. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 60, 561-588.
- Martin, Dore, Buxton, & Pollari F, H. (2004). Increased burden of illness associated with antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium infections. *Journal of Infectious Diseases*.
- Matyar, F. (2010). Multiple Antibiotic Resistance Among *Listeria monocytogenes* In Retail Foods, In Adana, Turkey. *International Journal of Food Science*, 22(4), 6.
- McDermott, P. (2010). Antimicrobial resistance in non-typhoidal *Salmonellae*. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. . *In A. Pressed* .
- Medrano, M. V., & Restrepo, S. a. (2006). Molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from clinical and food samples. . *Biomédica*, 442-450.
- Mercado, M., Avila, J., Rey, M., Montoya, M., Gamboa, Andrea, & Carrascal, A. K. (2012). Brotes por *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomedica*, 375-385.
- Michanle, S. (2015). *Salmonella* en alimentos. Cambio de paradigma. Parte 1. *Revista La Alimentacion Latinoamericana*(319), 62-68. Obtenido de <http://alaccta.org/acta-realiza-lanzamiento-del-capitulo-de-asuntos-regulatorios/>
- Miller, A., & Smith, J. a. (2011). Foodborne Listeriosis. . *Elsevier, Amsterdam*.
- Mishu Allos, B. (2011). *Campylobacter jejuni* Infections. *Update on Emerging Issues Trends Clinical Infectious Diseases*, 32, pág. 6.
- Miya, S., K., B., Sato, M., Takahashi, H., Ishikawa, T., & Takakura, T. S. (2008). Development of a multilocus variable-number of tandem repeat typing method for *Listeria monocytogenes* serotype 4b strains. *International Journal of Food Microbiology*.
- Miyasaki, K., Souza, A., Destro, M. T., & Landgraf, M. a. (2009). High prevalence, low counts and uncommon serotypes of *Listeria monocytogenes* in linguíça, a Brazilian fresh pork sausage. *Meat Science*.
- MJ, B. (2000). *Campylobacter jejuni* and related species. *Principles and practice of infectious diseases*. (5 ed.). Philadelphia: Churchill Livingston.

- Moore, J. (2006). The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes Infect*, 1955-1966.
- Muñoz N, R. M., MV, O., & E., C. (2007). *Informe anual de la vigilancia fenotípica y molecular de Salmonella spp., en Colombia*. IQEN.
- Muñoz, A. I., Vargas, M., Otero, L., & Diaz, G. y. (2011). Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008. *Biomedica*, 31, 428-439.
- Muñoz, N. (2009). Vigilancia por el laboratorio de los patógenos bacterianos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos en Colombia. *Medicina & Laboratorio*, 15(2).
- Muñoz, N., & Castañeda, E. (2006). Caracterización por electroforesis en campo pulsado de aislamientos de *Salmonella Typhimurium* recuperados en el programa de enfermedad diarreica aguda en Colombia. *Biomédica*, 26(10), 1997-2004.
- Muñoz, N., Ovalle, M., & Castañeda, E. (2007). Informe anual de la vigilancia fenotípica y molecular de *Salmonella spp.*, en Colombia. *IQEN*, 12. .
- Nancy Rivera, N., Bustos, R., Montenegro, S., Sandoval, M., Castillo, J., Fernández, H., . . . Quevedo, I. (2011). Genotipificación y resistencia antibacteriana de cepas de *Campylobacter spp* aisladas en niños y en aves de corral. *Rev Chil Infect*, 28(6), 555-562.
- Nielsen, H. K., Hansen, K. O., Gradel, B., Kristensen, T., Ejlersen, C., & Schønheyder., Ø. a. (2010). Bacteraemia as a result of *Campylobacter* species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. *Clin Microbiol Infect*, 18(5).
- O'Leary, Harding, Fisher, & Cowden. (2009). A continuous common-source outbreak of *Campylobacteriosis* associated with changes to the preparation of chicken liver pâté. *Epidemiol Infect.*, 137(3), 383-388.
- OIE. (2008).
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.09.07_LISTERIA_MONO.pdf. Obtenido de WWW.OIE.

- OIE. (2012).
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.03.11_Pulorosis_tifosis_aviar.pdf. Obtenido de
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.03.11_Pulorosis_tifosis_aviar.pdf.
- OIE, O. M. (2017). <http://www.oie.int/es/>. Recuperado el 2017, de <http://www.oie.int/es/>.
- OMS. (2005).
http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguiridad_laboratorio.pdf.
Obtenido de
http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguiridad_laboratorio.pdf.
- OMS. (2016). http://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/en/.
Obtenido de http://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/en/.
- Ortiz, J. K. (2014). *Uso del halquinol, una mirada crítica en Colombia frente al registro de antibióticos promotores de crecimiento*. Bogotá DC: Universidad de la Salle.
- Oscar, T. P. (2004). A quantitative risk assessment model for Salmonella and whole chickens. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 231-247.
- Parisi, A., Normanno, G., Miccolupo, A., Fracalvieri, R., Lorusso, V., & Santagada, G. (2010). Amplified Fragment length polymorphism and multi-locus sequence typing for high resolution genotyping of *Listeria monocytogenes* from foods and environment. *Food Microbiology*, 27(8).
- Parveen, Schwarz, Oscar, Harter-Dennis, & White. (2007). Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella recovered from processed poultry. *J Food Prot.*, 2466-2472.
- Pérez-Rubiano, C., & Carrascal-Camacho, A. K. (2008). Incidencia de *Listeria* spp. en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogotá. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 6(10), 6.
- Phillips, Cox, Groot, D., Friis, & Jones. (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemoth*, 28-53.

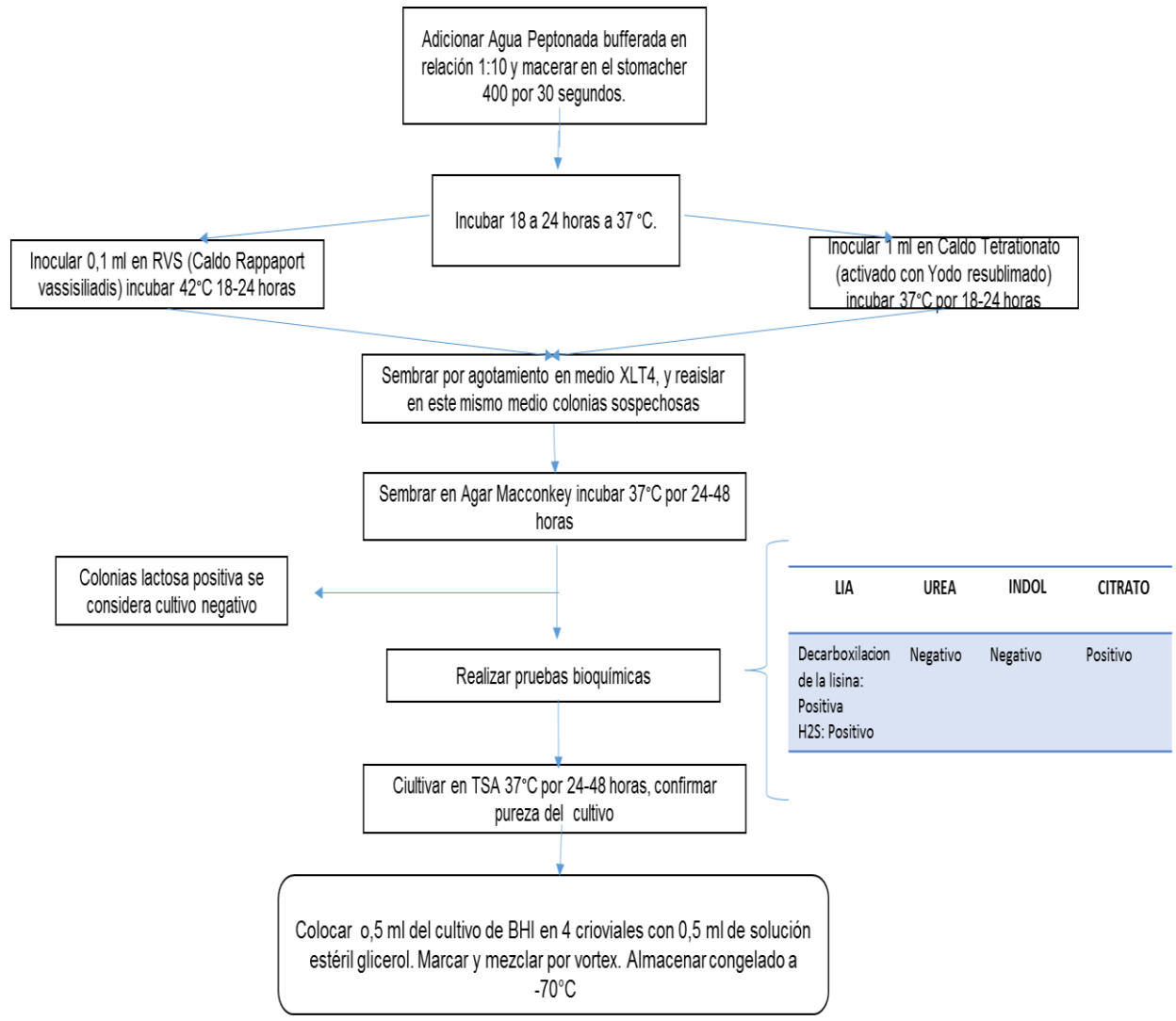
- Planeacion, D. N. (2007.). *Conpes 3468. Política nacional de sanidad e inocuidad para la cadena avícola*. Bogota: DNP.
- Pointon, A., Dowsett, T., Saputra, A., Kiermeier, M., Lorimer, G., Holds, G., . . . Sumner., C. a. (2008). A Baseline Survey of the Microbiological Quality of Chicken Portions and Carcasses at retail two Australian States (2005 to 2006). *Journal of Food Protection*, 71(6), 11.
- Puig Peña, Y., & Espina-Hernandez, M. y.-C. (Enero-abril de 2011). Resistencia antimicrobiana en Salmonella y Escherichia coli aisladas de alimentos: Revision de la literatura. *Panorama Cuba y salud*, 6(1), 30-38.
- Pulido-Landinez, M., & Sánchez-Ingunza, R. G. (March de 2014). Presence of Salmonella enteritidis and Salmonella gallinarum in commercial laying hens diagnosed with fowl typhoid disease in Colombia. *Avian Diseases*, 58(1), 165-170.
- Rabatsky-Ehr T, W. J.-r., & Stobberingh, E. (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics link between animals and humans. *Int J antimicrobial agents*, 9(14).
- Realpe-Delgado, M. E., Muñoz-Delgado, A. B., Donado-Godoy, P., Rey-Ramírez, L. M., Diaz-Guevara, P. L., & Alejandra, A.-M. y. (octubre-diciembre de 2016). Epidemiología de Salmonella spp., Listeria monocytogenes y Campylobacter spp., en la cadena productiva avícola. *IATREIA*, 29(4), 397-406.
- República de Colombia , Decreto de Ministerio de Salud de la República de Colombia 3075 de 1997 (Decreto 3075 de 1997 1997).
- Rodríguez, R., Fandiño, C.-G. P., & Guzman, L. a. (2015). Characterization of Salmonella from Commercial Egg-Laying Hen Farms in a Central Region of Colombia. *Avian diseases*, 59, 57-63.
- Ruiz-Bolivar, Z., & Poutou-Piñales, R. R. (julio-diciembre de 2008). Resistencia antimicrobiana y de desinfectantes a Listeria spp. *NOVA, Publicacion Cientifica en Ciencias Biomedicas.*, 6(10), 101-236.
- Sakaridis, Iossifidou, A., Papa, I., & Koidis., A. A. (2011). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Listeria monocytogenes Isolated in Chicken Slaughterhouses in Northern Greece. *Journal of Food Protection*, 6.

- Salud, I. N. (2009). *Informe epidemiológico de las enfermedades transmitidas por alimentos a semana epidemiológica*. Bogota: INS.
- Salud, I. n. (2011). *Boletín epidemiológico semanal. Semana epidemiológica número 1 de 2011*. Instituto Nacional de Salud. Bogota: Instituto nacional de Salud.
- Salud, I. N. (2015). *Boletín Epidemiológico*. Instituto Nacional de Salud, Cundinamarca. Bogota: INS. Obtenido de <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiologico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2045.pdf>
- Salud, O. d. (2004). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo*. . OMS.
- Salud., I. N. (2010). *Protocolo de vigilancia en salud pública de las enfermedades transmitidas por alimentos*. Bogota: INS.
- Salyers A, W. D. (2002). Bacterial Patogénesis: a molecular approach. . ASM press, 681-695. .
- Sanchez, F. (2006). Incidencia de especies de Listeria en una planta productora de alimentos congelados. . *Ciencia UANL*, 51-56.
- Suárez, M., & Mantilla, J. (2000). Presencia de Salmonella serovariedad Enteritidis en productos de origen avícola y su repercusión en salud pública. *Iatreia*, 13, 237-245.
- Tecnología., M. d. (2001). *Manual de procedimientos. Campylobacter. Subsecretaría de Investigación y Tecnología*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.
- Toro, E. S. (2010). Electroforesis de campo eléctrico pulsado en la tipificación molecular de cepas aisladas de un brote de Salmonelosis ocasionado por consumo de queso contaminado con Salmonella. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 41(2), , 22-26. Recuperado el 15 de Marzo de 2017, de <http://www.scielo.org.ve>
- Torpdahl, M., Gitte, S., & Bjørn, A. L. (2007). Tandem Repeat Analysis for Surveillance of Human Salmonella Typhimurium Infections. *Emerging Infectious Diseases* , 388-395.

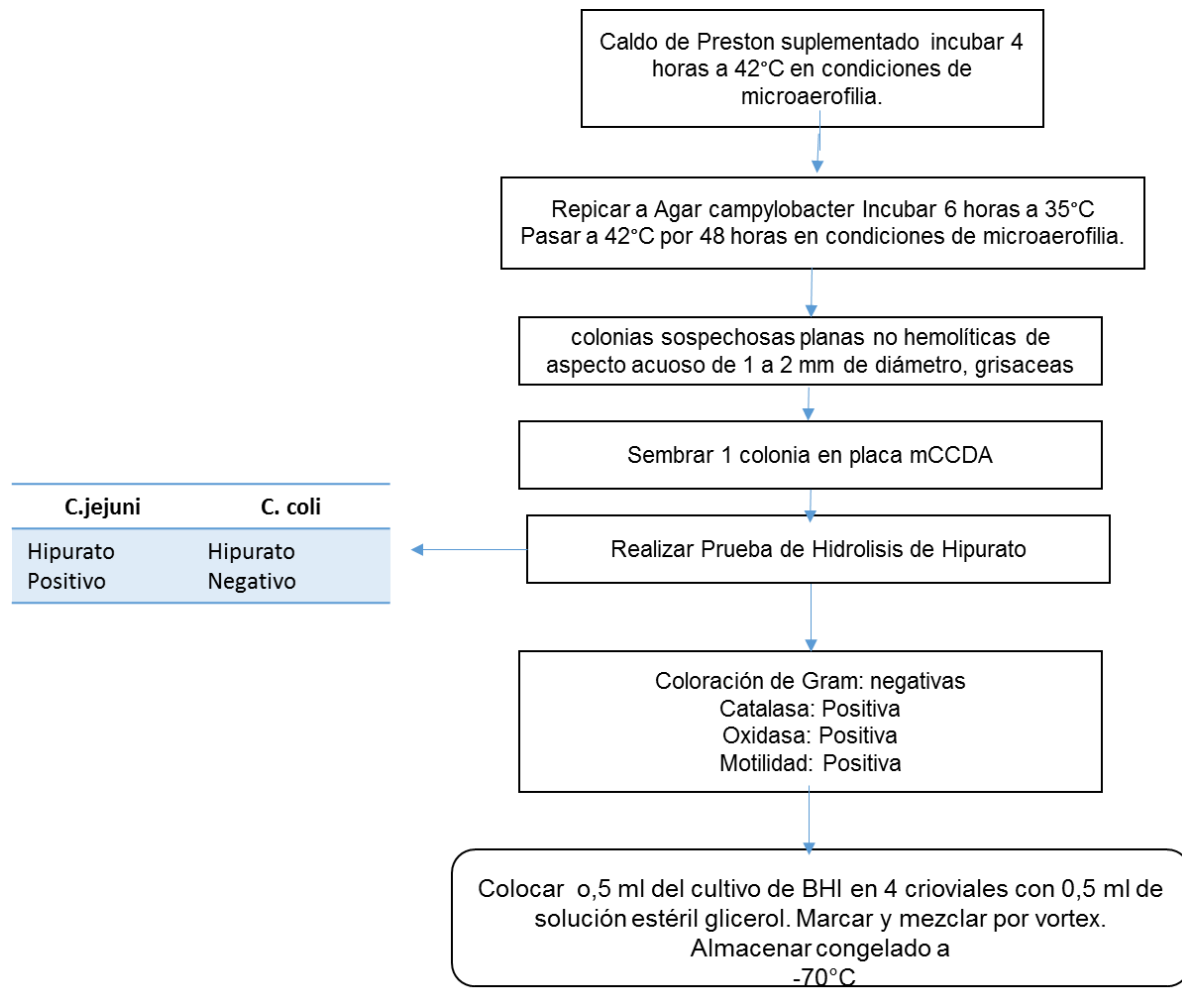
- Urrea, P. (2011). Consideraciones Generales para el Sacrificio de Pollos de Engorde y Rendimiento en Canal. *Avícola Colombiana*. .
- USDA/FSIS. (20 de 09 de 2013). <https://www.fsis.usda.gov/wps>. Obtenido de <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/45d64449-505f-4669-a624-45f775c2dcec/10250.1-Spanish.pdf?MOD=AJPERES>.
- USDA/FSIS. (2008). Compliance Guideline for Controlling Salmonella and Campylobacter in Poultry. *USDA/FSIS*.
- Vega, J., & Mojica, A. (2005). *Características del sector avícola colombiano y su reciente evolución en el departamento de Santander*. Ensayos sobre economía regional. .
- Vignoli, R., & Seija, V. (2012). <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/>. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/>
- WHO. (2000). *Campylobacter*. Geneva: Retrieved from: WHO.
- WHO. (Septiembre de 2016). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>.
- WHO. (2005). *Drug-resistant Salmonella*. Retrieved from . WHO.

ANEXOS

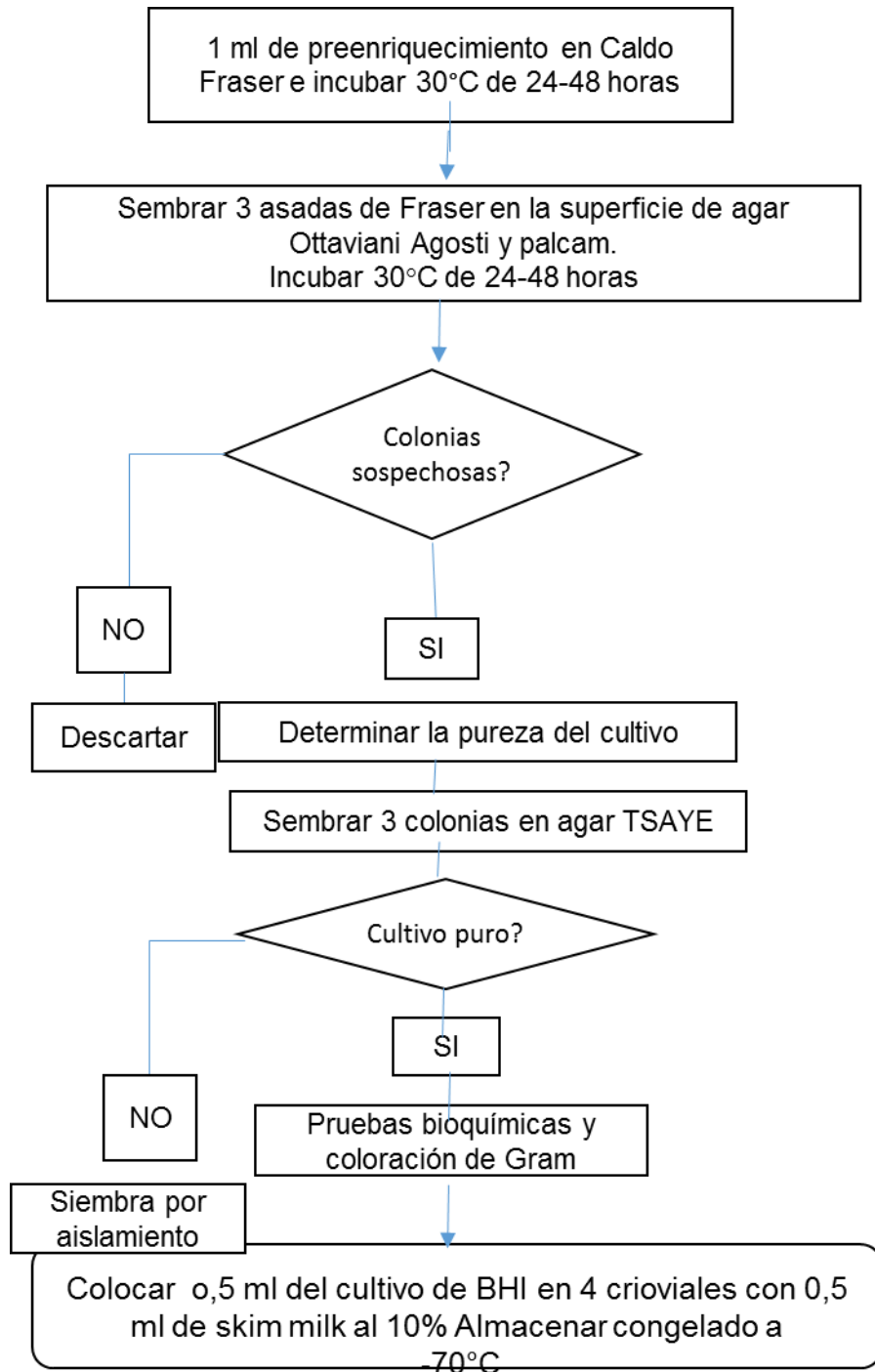
Anexo A. Protocolo de aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.



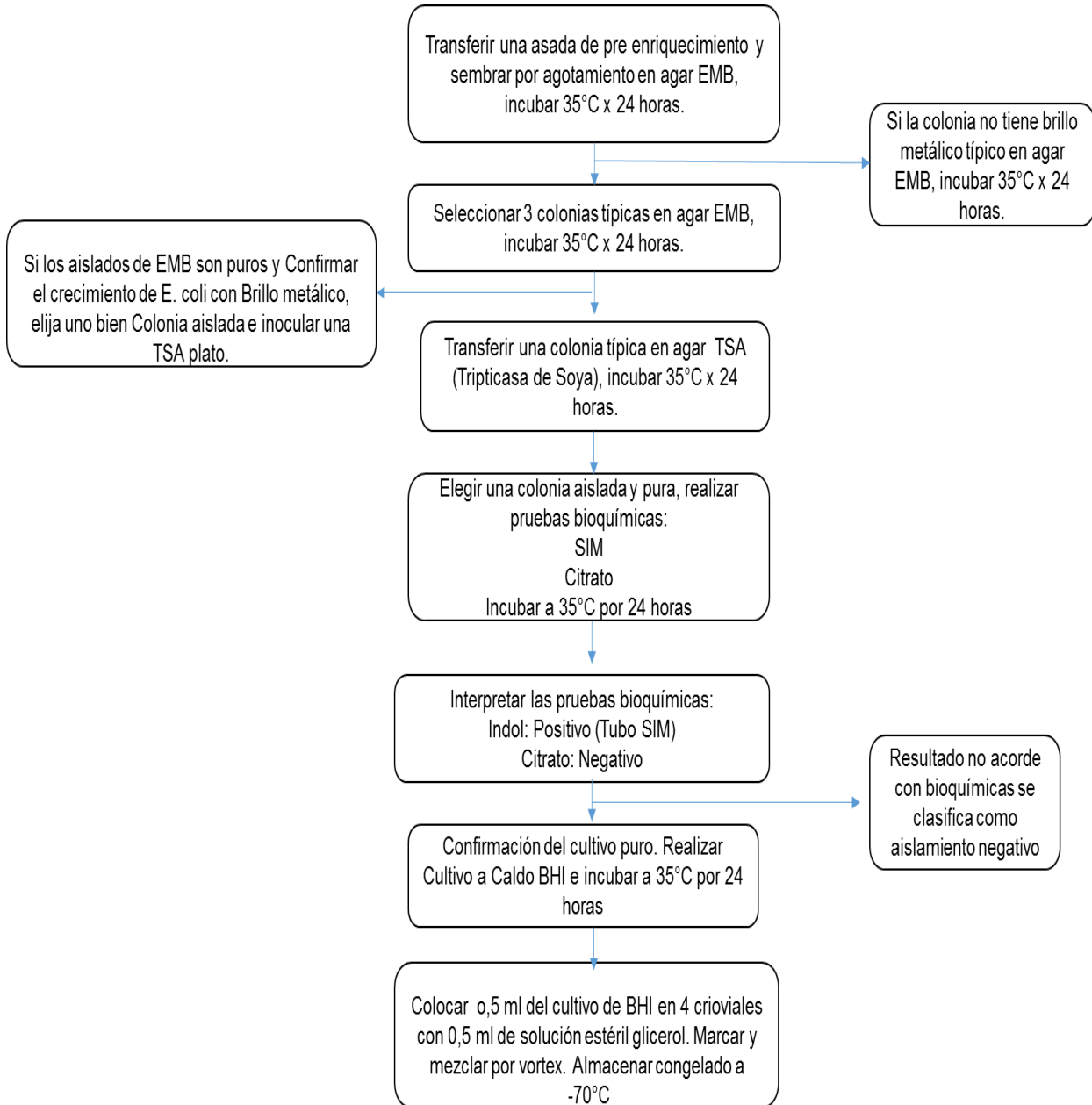
Anexo B. Protocolo de aislamiento e identificación de Campylobacter spp.



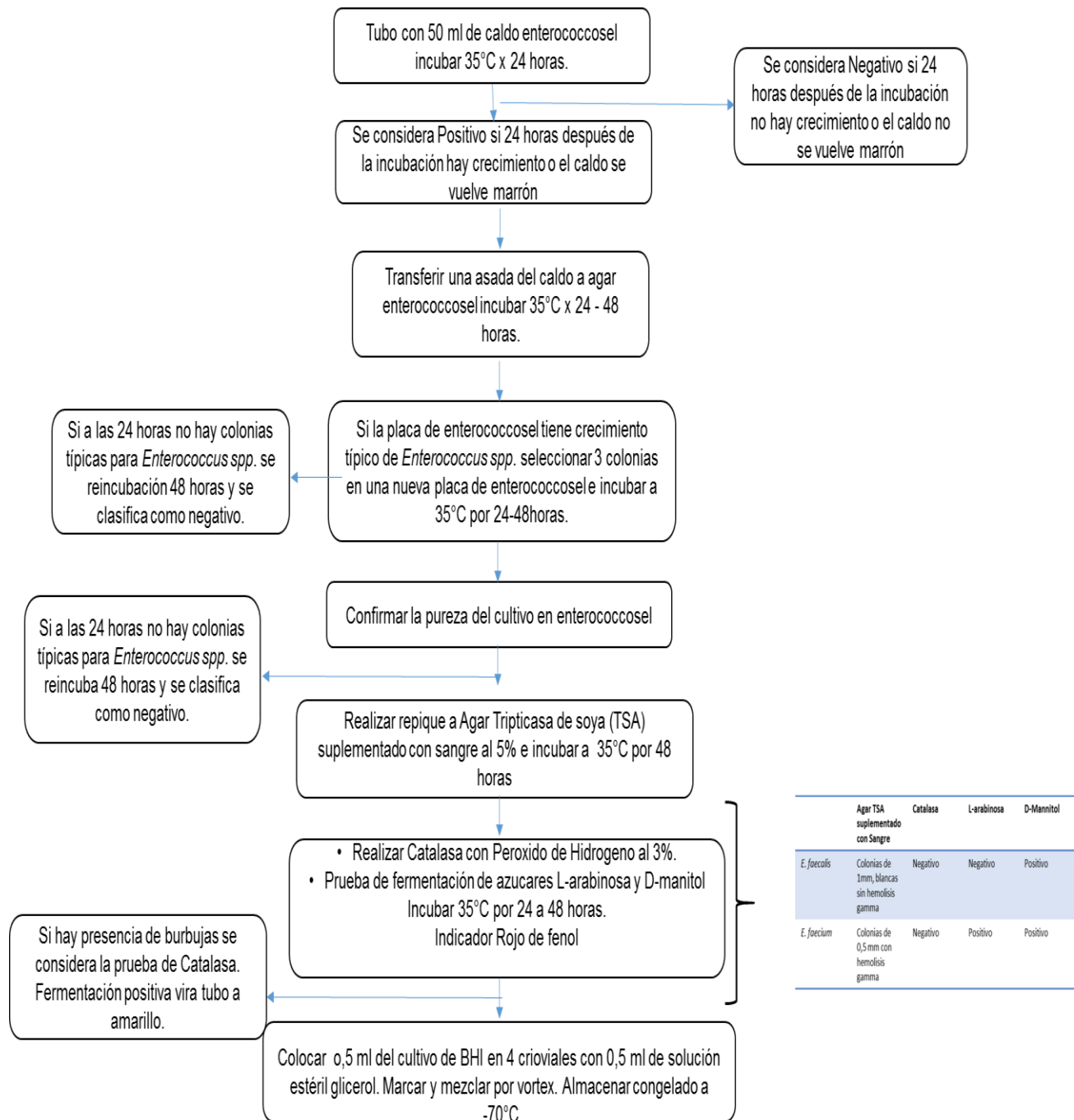
Anexo C. Protocolo de aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes*.



Anexo D. Protocolo de aislamiento e identificación de *Escherichia coli*.



Anexo E. Protocolo de aislamiento e identificación de *Enterococcus spp.*



| | Agar TSA suplementado con Sangre | Catalasa | L-arabinosa | D-Mannitol |
|--------------------|---|----------|-------------|------------|
| <i>E. faecalis</i> | Colonias de 1mm, blancas sin hemolisis gamma | Negativo | Negativo | Positivo |
| <i>E. faecium</i> | Colonias de 0,5 mm con hemolisis gamma | Negativo | Positivo | Positivo |

Anexo F. Acta de Compromiso

Los grupos, Microbiología del Instituto Nacional de Salud, investigación y vigilancia integrada de la resistencia antimicrobiana de CORPOICA, llevarán a cabo un estudio que busca evaluar la epidemiología y los factores de asociados a la presentación de ETA causada por *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocitogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. en la cadena productiva de pollo, en dos diferentes regiones de Colombia.

De manera atenta solicitamos su valiosa colaboración en el desarrollo de este estudio, mediante su autorización para la recolección de muestras de alimento para animales, granjas, plantas de incubación, galponeros, manipuladores de alimentos y fuentes de agua, con el fin de que sean procesadas microbiológicamente y se obtengan datos que serán analizados para la generación de información epidemiológica que conlleve a intervenciones adecuadas y que finalmente redundará en la promoción de la salud y la prevención de la enfermedad de los consumidores de los alimentos que ustedes producen.

La información recolectada será confidencial y será manejada únicamente por el grupo de investigadores, los resultados generados a partir del estudio serán únicamente de interés en salud pública, no para la toma de medidas sanitarias y no tendrán ningún costo ni para usted ni los trabajadores.

Luego de conocer el objeto de la presente, yo

_____ con c.c _____,

representante legal de la empresa: _____ con

NIT: _____, acepto participar voluntariamente en este estudio.

Firma: _____ CC No. _____

Investigador que tomará las muestras.

Nombre: _____ C.C _____ Firma:

Testigo

Nombre: _____ C.C _____ Firma:

Datos de la empresa.

Dirección:

Teléfonos: _____ fax

Actividad industrial _____ Alimentos producidos:

Nº manipulador de alimentos _____ Nº Galponeros:

Marca de alimentos usados para animales _____ Lote

muestreado _____

Gracias por su colaboración

Anexo G. Cuestionario de Muestreo en Granja

1. General:

- Fecha de la visita: _____
- Empresa: _____
- ID de la granja: _____
- Municipio: _____
- Vereda: _____
- Altura de la granja (msnm): _____
- Estirpe de las aves: _____
- Número de lote: _____
- Nivel de bioseguridad clasificada por la empresa (1-5): _____

2. Información de la muestra:

Muestra 1

Unidad de producción 1:

- Galpón # : _____
- Sexo: _____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho: _____
 - Largo: _____
- # de aves en la unidad de producción: _____
- Días en el ciclo de producción: _____
- Mortalidad acumulada: _____
- Tipo de muestra: _____
- ID de la muestra (número de bolsa): _____

Muestra 2

Unidad de producción 1:

- Galpón # : _____
- Sexo: _____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho: _____
 - Largo: _____
- # de aves en la unidad de producción: _____

- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____
- ID de la muestra (número de bolsa):_____

Muestra 3

Unidad de producción 2:

- Galpón # :_____
- Sexo:_____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho:_____
 - Largo:_____
- # de aves en la unidad de producción:_____
- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____
- ID de la muestra (número de bolsa):_____

Muestra 4

Unidad de producción 2:

- Galpón # :_____
- Sexo:_____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho:_____
 - Largo:_____
- # de aves en la unidad de producción:_____
- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____
- ID de la muestra (número de bolsa):_____

Muestra 5

Unidad de producción 3:

- Galpón # :_____

- Sexo:_____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho:_____
 - Largo:_____
- # de aves en la unidad de producción:_____
- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____
- ID de la muestra (número de bolsa):_____

Muestra 6

Unidad de producción 3:

- Galpón # :_____
- Sexo:_____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho:_____
 - Largo:_____
- # de aves en la unidad de producción:_____
- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____
- ID de la muestra (número de bolsa):_____

Muestra 7

Unidad de producción 4:

- Galpón # :_____
- Sexo:_____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho:_____
 - Largo:_____
- # de aves en la unidad de producción:_____
- Días en el ciclo de producción:_____
- Mortalidad acumulada:_____
- Tipo de muestra:_____

- ID de la muestra (número de bolsa): _____

Muestra 8

Unidad de producción 4:

- Galpón # : _____
- Sexo: _____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho: _____
 - Largo: _____
- # de aves en la unidad de producción: _____
- Días en el ciclo de producción: _____
- Mortalidad acumulada: _____
- Tipo de muestra: _____
- ID de la muestra (número de bolsa): _____

Muestra 9

Unidad de producción 5:

- Galpón # : _____
- Sexo: _____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho: _____
 - Largo: _____
- # de aves en la unidad de producción: _____
- Días en el ciclo de producción: _____
- Mortalidad acumulada: _____
- Tipo de muestra: _____
- ID de la muestra (número de bolsa): _____

Muestra 10

Unidad de producción 5:

- Galpón # : _____
- Sexo: _____
- Dimensiones del galpón:
 - Ancho: _____

- Largo: _____
- # de aves en la unidad de producción: _____
- Días en el ciclo de producción: _____
- Mortalidad acumulada: _____
- Tipo de muestra: _____
- ID de la muestra (número de bolsa): _____

3. Información de la granja

- **Operaciones solo con aves:**

1. Tipo de operación:

- Todo adentro – Todo afuera
- Continua
- Datos múltiples

2. Número de aves en la granja: _____

3. Número de galpones en la granja: _____

4. Origen de las aves (Incubadora): _____

5. Origen de los huevos: _____

- **Operaciones mixtas:**

- Identificar una especie animal adicional en la granja

| Tipo de animal | Número de animales | Alojamiento separado (si/no) |
|------------------|--------------------|------------------------------|
| Cerdos | | |
| Bovinos de leche | | |
| Bovinos de carne | | |
| Terneros | | |
| Pavos | | |
| Ovejas | | |
| Caballos | | |
| Gatos | | |
| Perros | | |
| Otro: | | |

¿Cuál? _____

4. Manejo

- ¿Qué tipo de alimento consumen las aves?: _____
- **Uso de la cama en la granja en el 2007:**
 - La cama es reciclada (si/no): _____
 - ¿Por cuánto tiempo? : _____
 - ¿Qué tratamiento se le realiza?:
 - Apilamiento
 - Desinfección
 - Cal seca
 - Agua
 - Se cubre con plástico (si/no): _____
 - La cama es extendida inmediatamente en los potreros de la granja para otros usos (si/no): _____
¿Cuál uso? _____
 - Cuando ya no sirve más la cama, ¿cómo se reutiliza?:
 - Abono
 - Gallinaza
 - Pollinaza
 - **¿Cuál es el tipo de piso?:**
 - Concreto
 - Tierra
 - Otro _____
 - **Los galpones tienen división de paredes (si/no):** _____
 - ¿Qué tipo de división?: _____
 - **Se tiene desagüe? (si/no):** _____
 - Desagüe en los campos
 - Otro: _____

5. Información del agua de la granja

- **Tipo de fuente de agua para beber en la granja:**
 - Pozo profundo Profundidad: _____
 - Lago artificial

- Acueducto
 - Otro: _____
- **Se realiza desinfección del agua de la granja (si/no):** _____
- Si contesto si- ¿cuál es el tipo?
- Ultra Violeta (UV)
 - Cloro
 - Peróxido
 - Otra: _____
- **Tipo de fuente de agua para beber en la casa (si es diferente que el agua de la granja):**
- Pozo profundo Profundidad _____
 - Lago artificial
 - Acueducto
 - Otro: _____
- **Se realiza desinfección del agua de la casa (si/no):** _____
- Si contesto si, ¿cuál es el tipo?: _____
- Ultra Violeta (UV)
 - Osmosis inversa (OI)
 - Combinación UV/OI
 - Cloro
 - Destilación
 - Filtro BRITA Tap
 - Otro Filtro Tap
 - Filtro de Jarra
 - (Refrigerador)
 - Otro: _____


5. Desinfectantes usados para instalaciones y equipo:

- a. Fenoles
- b. Cresoles
- c. Bisfenoles

- d. Hipocloritos
- e. Yodados
- f. Formaldehido
- g. Amonio cuaternario
- h. Glutaraldehido
- i. peróxido de hidrogeno
- j. 2-fenoxietanol
- k. Sulfato de Cobre
- l. Agua caliente
- m. Calor seco

6. Uso antibióticos:

| Tipo de Antibióticos | Si | No |
|---|-----------|-----------|
| a. Promotores de crecimiento | | |
| Halquinol | | |
| Virginamicina | | |
| Otro | | |
| b. Antimicoplasmicos | | |
| Tartrato de Tylosina | | |
| Fosfato de Tilmicosina | | |
| Fumarato hidrogenado de Tiamulina | | |
| Lincomicina- Espectinomicina | | |
| Espiramicina | | |
| Donafloxacina | | |
| Clortetraciclina + Tiamulina | | |
| c. Antibióticos de amplio espectro | | |
| Fosfomicina cálcica | | |
| Florfenicol | | |
| Ceftiofur sódico | | |
| Oxitetraciclina | | |
| Oxitetraciclina + Neomicina | | |
| Gentamicina | | |
| Tetraciclina | | |
| Clortetraciclina | | |
| Estreptomina | | |
| Amoxicilina | | |
| Bacitracina | | |
| Zinc-Bacitracina | | |
| Eritromicina | | |
| Cefalosporinas | | |
| Cefalotina | | |
| Sulfadiazina | | |
| Sulfametazina | | |
| Trimetropin- Sulfacloropiridazina sódica | | |
| Quinolonas: | | |
| Enrofloxacina | | |
| Ciprofloxacina | | |
| Norfloxacina | | |
| Danofloxacina | | |
| d. Antimicóticos: | | |
| Enilconazol | | |

| | | |
|--|---|--|
|  Universidad del Tolima | PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL | Página 1 de 3 |
| | | Código: GB-P04-F03 |
| | | Versión: 03 |
| | | Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017 |

Los suscritos:

| | | |
|-------|------------|-------|
| _____ | con C.C N° | _____ |
| _____ | con C.C N° | _____ |
| _____ | con C.C N° | _____ |
| _____ | con C.C N° | _____ |
| _____ | con C.C N° | _____ |

Manifiesto (an) la voluntad de:

Autorizar

No Autorizar **Motivo:** _____


La consulta en físico y la virtualización de **mi OBRA**, con el fin de incluirlo en el repositorio institucional de la Universidad del Tolima. Esta autorización se hace sin ánimo de lucro, con fines académicos y no implica una cesión de derechos patrimoniales de autor.

Manifestamos que se trata de una OBRA original y como de la autoría de LA OBRA y en relación a la misma, declara que la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA, se encuentra, en todo caso, libre de todo tipo de responsabilidad, sea civil, administrativa o penal (incluido el reclamo por plagio).

Por su parte la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA se compromete a imponer las medidas necesarias que garanticen la conservación y custodia de la obra tanto en espacios físico como virtual, ajustándose para dicho fin a las normas fijadas en el Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad, en la Ley 23 de 1982 y demás normas concordantes.

La publicación de:

| | | | | | |
|---|-------------------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Trabajo de grado | <input checked="" type="checkbox"/> | Artículo | <input type="checkbox"/> | Proyecto de Investigación | <input type="checkbox"/> |
| Libro | <input type="checkbox"/> | Parte de libro | <input type="checkbox"/> | Documento de conferencia | <input type="checkbox"/> |
| Patente | <input type="checkbox"/> | Informe técnico | <input type="checkbox"/> | | |
| Otro: (fotografía, mapa, radiografía, película, video, entre otros) | | | | | <input type="checkbox"/> |

| | | |
|--|---|--|
|  Universidad del Tolima | PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL | Página 2 de 3 |
| | | Código: GB-P04-F03 |
| | | Versión: 03 |
| | | Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017 |

Producto de la actividad académica/científica/cultural en la Universidad del Tolima, para que con fines académicos e investigativos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad del Tolima. Con todo, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la Ley 23 de 1982. En concordancia suscribo este documento en el momento mismo que hago entrega del trabajo final a la Biblioteca Rafael Parga Cortes de la Universidad del Tolima.

De conformidad con lo establecido en la Ley 23 de 1982 en los artículos 30 “**...Derechos Morales. El autor tendrá sobre su obra un derecho perpetuo, inalienable e irrenunciable**” y 37 “**...Es lícita la reproducción por cualquier medio, de una obra literaria o científica, ordenada u obtenida por el interesado en un solo ejemplar para su uso privado y sin fines de lucro**”. El artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “**los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores**” y en su artículo 61 de la Constitución Política de Colombia.

- Identificación del documento:

Título completo: DETERMINACIÓN DE PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA PARA *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp EN LA CADENA PRODUCTIVA AVÍCOLA: ABUELAS, REPRODUCTORAS Y POLLO DE ENGORDE

- Trabajo de grado presentado para optar al título de:


Magister en Ciencias Pecuarias

- Proyecto de Investigación correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Informe Técnico correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Artículo publicado en revista:

- Capítulo publicado en libro:

| | | |
|--|---|--|
|  Universidad del Tolima | PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL | Página 3 de 3 |
| | | Código: GB-P04-F03 |
| | | Versión: 03 |
| | | Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017 |


- Conferencia a la que se presentó: _____

Quienes a continuación autentican con su firma la autorización para la digitalización e inclusión en el repositorio digital de la Universidad del Tolima, el:

Día: **22** Mes: **Octubre** Año: **2018**

Autores:

Firma

| | | | |
|---------|---------------------------|---|----------|
| Nombre: | Ana Rosa Puentes Martinez |  | 39621391 |
| | _____ | _____ | _____ |
| Nombre: | _____ | _____ | C.C. |
| Nombre: | _____ | _____ | C.C. |
| Nombre: | _____ | _____ | C.C. |

El autor y/o autores certifican que conocen las derivadas jurídicas que se generan en aplicación de los principios del derecho de autor.