

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CUATRO
PATOGENOS AISLADOS DE CARNE DE RES ADOBADA

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

VERONICA CAROLINA BLANCO CAMPOS

MARITZA JACKELINE MARTINEZ FLORES

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO 2020

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESORA DE AREA EN MICROBIOLOGIA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

DOCENTE ASESOR

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por brindarnos su guía, sabiduría, por acompañar nuestros pasos y así poder terminar con éxito nuestro proceso de investigación.

A nuestros padres por su apoyo incondicional, su amor, consejos y por confiar en nosotras sin dudar.

A nuestras familias por darnos ánimos en momentos difíciles.

Eternamente agradecidas con nuestra asesora MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez a nuestros jurados MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez y MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz por haber compartido sus conocimientos que han enriquecido mucho nuestro proyecto de investigación.

A todos los docentes, personal administrativo por brindarnos su apoyo.

Verónica Blanco y Maritza Martínez

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico primeramente a Dios y a María Auxiliadora, porque con su bendición llenan siempre mi vida y me dan las fuerzas a continuar en este proceso de obtener uno de mis anhelos más deseados.

A mis padres Otto Edgardo Blanco y Ángela de Blanco, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ellos he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que hoy soy.

A mi hermana Sandra Blanco y mis sobrinos Fernanda y Gabriel, por estar presentes acompañándome y apoyándome en cada momento.

A mis tías Thelma y Alba Luz, por todo su apoyo incondicional.

A mi compañera de tesis Maritza, por toda su paciencia y amistad.

A si mismo deseo expresar mi agradecimiento a nuestra asesora MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez y a nuestros jurados MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez y MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz por haber compartido sus conocimientos a lo largo de nuestro proyecto de investigación, quienes han guiado con mucha paciencia y dedicación.

Verónica Carolina Blanco Campos

DEDICATORIA

Gracias Dios por permitirme llegar a este punto de mi vida, por ser mi guía, mi fortaleza, por brindarme la felicidad que siento.

A mi amada madre María Delfina por darme su apoyo incondicional, consejos y confiar en mí sin dudar, agradezco a Dios por tenerla en mi vida. Eres para mí la fuente de inspiración.

A mi abuela Felipa que me ha demostrado que la mejor virtud que podemos tener es la paciencia.

A mi respetable padre Marcos por haberme inscrito en esta maravillosa facultad que me vio correr y crecer.

A mis hermanos Herbert y Omar por esos momentos de alegría y demostrarme que siempre hay solución para la mayoría de las situaciones.

A mi cómplice, amigo y esposo por brindarme su apoyo.

A mi tía, prima y amados sobrinos Leito, Frida y Joel por darme tantas alegrías.

Mi gran estima para nuestra asesora MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez por hacerme sentir que podemos dar lo mejor cada día a MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez por brindarme esa paz que necesitaba para llegar a nuestra meta y MSc. Coralía de los Ángeles González de Díaz por su valioso conocimiento para culminar nuestro proceso de investigación.

A mi compañera de tesis Vero, por su amistad.

A todas las personas que Dios envió a mí, para darme sus consejos y apoyo en mis años de estudio y así lograr completar mi carrera.

Maritza Jackeline Martínez Flores.

ABREVIATURAS

BAM:	Manual de Análisis Bacteriológico.
BHI:	Caldo Infusión Cerebro Corazón
CENSALUD:	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud.
EC:	<i>Escherichia coli</i> .
EMB:	Agar de Levine Azul de Metileno.
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
H ₂ O ₂ :	Peróxido de Hidrogeno.
H ₂ S:	Sulfuro de Hidrógeno.
I:	Intermedio
MAG:	Ministerio de Agricultura y Ganadería.
mm:	milímetros.
NCCLS:	Performance Standars for Antimicrobial Disk test.
R:	Resistente.
RTCA:	Reglamento Técnico Centroamericano
RVS:	Rappaport-Vasiliadis
S:	Sensible
SB:	Sulfito Bismuto.
SS:	Salmonella-Shigella
TSA:	Trypticase Soya.
TSI:	Triple azúcar hierro
TT:	Tetrationato
UFC/g:	Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra.
VP:	Voges-Proskauer
XLD:	Xilosa lisina Desoxicolato

ÍNDICE GENERAL

	Pág. N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 INTRODUCCIÓN	xviii
Capítulo II	
2.0 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
Capítulo III	
3.0 MARCO TEORICO	23
3.1 Generalidades de carnes adobadas	23
3.2 Fuentes de contaminación de carne adobada	24
3.3 Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS)	24
3.3.1 Clasificación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS)	25
3.4 Generalidades de los microorganismos	26
3.4.1 Coliformes	26
3.4.1.1 <i>Escherichia coli</i>	27
3.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	28
3.4.3 <i>Salmonella spp</i>	29
3.4.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	29
3.5 Resistencia antibiótica	31
3.5.1 Resistencia antimicrobiana a antibióticos	31
3.5.2 Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos	34
3.5.2.1.1 Origen de la resistencia a los fármacos.	34
3.6 Limitación de la resistencia a los fármacos	35
3.7 Antibióticos de uso frecuente para el tratamiento de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>Listeria monocytogenes</i>	36

Capítulo IV

4.0 DISEÑO METODOLOGICO	38
4.1 Tipo de estudio	38
4.2 Investigación bibliográfica	38
4.3 Investigación de campo	39
4.3.1 Universo y muestra	39
4.3.2 Muestreo	39
4.4 Descripción de las condiciones higiénicas del área y personal de despacho de las carnes en supermercados seleccionados	41
4.5 Recolección de muestra	42
4.6 Parte experimental	44
4.6.1 Determinación de pH	45
4.6.2 Preparación de diluciones para pruebas microbiológicas	45
4.6.3 Identificación del microorganismo	45
4.6.3.1 Enumeración de coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i>	45
4.6.3.1.1 Pruebas bioquímicas	47
4.6.3.2 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
4.6.3.2.1 Pruebas de confirmación	49
4.6.3.3 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	50
4.6.3.3.1 Pruebas bioquímicas	51
4.6.3.4 Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	53
4.6.3.4.1 Pruebas de identificación	54
4.7 Comparación de resultados obtenidos	56

4.8 Perfil de resistencia a 12 antibióticos de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> por el método de Difusión en Disco (Kirby-Bauer)	57
4.9 Comparación entre los resultados obtenidos de la resistencia microbiana de la cepa control y cepas aisladas de las muestras	59
Capítulo V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	61
Capítulo VI	
6.0 CONCLUSIONES	92
Capítulo VII	
7.0 RECOMENDACIONES	95
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°		Pág. N°
1	Listado de posibles causas de fracaso antibiótico en el uso veterinario.	32
2	Antibióticos de uso frecuente para el tratamiento de <i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	36
3	Línea comercial de supermercados de la zona metropolitana de San Salvador y muestreo por estrato.	41
4	Número de muestra que se tomaron por estrato, tipo de carne adobada y magra.	42
5	Resultado esperado para las pruebas bioquímicas para la confirmación de <i>Escherichia coli</i> .	48
6	Resultado esperado para las pruebas bioquímicas para la confirmación de <i>Salmonella spp.</i>	52
7	Resultado esperado para las pruebas de identificación para <i>Listeria monocytogenes</i> .	55
8	Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos.	56
9	Criterios de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, acuerdo N° 078 00, Tegucigalpa, Honduras.	56
10	Antibióticos que se utilizaron en el antibiograma.	58
11	Porcentaje de ubicación y alrededores de las salas de venta de los supermercados.	61
12	Porcentaje de personas que utilizan la vestimenta adecuada para el despacho de carnes adobadas.	62

CUADRO N°		Pág. N°
13	Porcentaje de personas que cumplen con aseo personal.	63
14	Porcentaje de condiciones de los equipos y utensilios en sala de despacho de carnes adobadas.	64
15	Número de muestras obtenida por tipo de adobo.	66
16	Códigos de muestra	66
17	Codificación de muestras por tipo de adobo.	67
18	Resultado de pH de muestras de carne de res adobada.	67
19	Porcentaje muestras con presencia de <i>Escherichia coli</i> identificados en muestras de carne de res adobada.	69
20	Porcentaje muestras con presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> identificados en muestras de carne de res adobada.	70
21	Porcentaje muestras con presencia de <i>Salmonella spp.</i> identificados en muestras de carne de res adobada.	71
22	Porcentaje muestras con ausencia de <i>Listeria monocytogenes</i> identificados en muestras de carne de res magras y adobadas.	73
23	Cepas aisladas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella spp.</i> , y <i>Listeria monocytogenes</i> por muestras	75
24	Número de antibióticos a los que son resistentes las cepas aisladas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella spp</i>	85

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág. N°
1	Muestreo por estrato y tipo de carne.	43
2	Colocación de discos de antibióticos y lectura de halos.	58
3	Adecuación de ubicación y alrededores de las salas de venta de los supermercados	62
4	Personas que utilizan la vestimenta adecuada para el despacho de carnes adobadas.	63
5	Personas que cumplen con aseo personal para el despacho de carnes adobadas.	64
6	Condiciones de los equipos y utensilios en sala de despacho de carnes adobadas.	65
7	Resultado de pH de muestras de carne de res magra y adobada.	68
8	<i>Escherichia coli</i> en muestras de carne de res adobadas.	69
9	<i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de carne de res adobadas.	70
10	Porcentaje de muestras con presencia de <i>Salmonella spp.</i>	72
11	<i>Listeria monocytogenes</i> en carnes adobadas analizadas.	74
12	Número de cepas aisladas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , y <i>Salmonella spp.</i> presentes en muestra.	75

FIGURA N°		Pág. N°
13	Sensibilidad, resistencia intermedia y resistencia de cepas aisladas <i>Escherichia coli</i> frente a doce antibióticos.	78
14	Sensibilidad, resistencia intermedia y resistencia de cepas aisladas <i>Staphylococcus aureus</i> , frente a doce antibióticos.	79
15	Sensibilidad, resistencia intermedia y resistencia de cepas aisladas <i>Salmonella spp.</i> frente a doce antibióticos.	81
16	Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de <i>Escherichia coli</i> .	82
17	Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	83
18	Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de <i>Salmonella spp</i>	84
19	Comparación de cepas aisladas de <i>Escherichia coli</i> y cepa control	87
20	Comparación de cepas aisladas de <i>Staphylococcus aureus</i> y cepa control	88
21	Comparación de cepas aisladas de <i>Salmonella spp</i> y cepa control	89

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Lista de chequeo de Buenas Prácticas Higiénicas de salas de venta.
- 2 Carnes magras y tipos de adobos muestreados.
- 3 Materiales, equipo y reactivos
- 4 Determinación de pH.
- 5 Preparación de diluciones para pruebas microbiológicas.
- 5 Enumeración de coliformes fecales y *Escherichia coli*.
- 7 Cálculo de UFC/g. para *E coli* y *Staphylococcus aureus*.
- 8 Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*.
- 9 Enumeración de *Staphylococcus aureus*.
- 10 Determinación de *Salmonella spp*.
- 11 Prueba presuntiva de *Listeria monocytogenes*
- 12 Determinación de *Listeria monocytogenes*.
- 13 Preparación del inóculo.
- 14 Interpretación de halo para *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*. basado en la normativa Comité Nacional de laboratorio clínico estandarizados, CLSI (NCCLS).
- 15 Informe de resultados de antibiogramas.
- 16 Identificación y aislamiento
- 17 Listado de microorganismos presentes en muestras analizadas
- 18 Listado de familias de antibióticos utilizados para el tratamiento de potenciales patógenos zoonóticos.
- 19 Medicamentos autorizados en los Estados Unidos para uso de animales productores de alimentos.
- 20 Especies bacterianas más comunes en adquisición de resistencia a antimicrobianos aisladas en animales.
- 21 Preparación de estándar 0.5 Macfarland.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la resistencia antimicrobiana de cuatro patógenos aislados de carne de res adobada, obtenida de supermercados de la zona metropolitana de San Salvador, frente a 12 antibióticos (Amoxicilina+ ac. Clavulánico, Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Kanamicina, Gentamicina, Norfloxacin, Sulfametoxazole/trimetoprim, Penicilina G, Tetraciclina, Eritromicina, Cloranfenicol, Neomicina) utilizados frecuentemente en el tratamiento de enfermedades producidas por ETAS. El procesamiento y análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología en Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, en el segundo semestre de 2017. De las muestras recolectadas (22), se aislaron e identificaron cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*, los resultados fueron comparados con los parámetros para productos cárnicos crudos descritos en Norma RTCA 67.04.50:08. Se determinó además el perfil de resistencia a 12 antibióticos, a través del método de difusión en disco Kirby Bauer, en el que se evaluó la sensibilidad, sensibilidad intermedia o resistencia (S; I o R) según lo establecido en la normativa (NCCLS). Las cepas control y aisladas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* presentaron resistencia en un 100% a penicilina 10 µg, sin embargo, las de *Staphylococcus aureus* presentan resistencia en un 60% a dicho antibiótico, una alternativa para el tratamiento de enfermedades producida por ETAS es sulfametoxazole/trimetoprim ya que las tres cepas presentaron sensibilidad en un 100%. La posible causa de la resistencia que muestran las cepas aisladas se debe al uso indiscriminado de antibióticos en el ganado, como promotores de crecimiento y como destructores de productos agrarios. Se recomienda realizar una investigación en la que se identifique la presencia de otros microorganismos patógenos en carne adobadas empacadas al vacío y venta al detalle con su respectivo perfil de multiresistencia.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La variabilidad comercial de las carnes y las exigencias de los clientes por novedades culinarias de fácil preparación, han propiciado la aceptación y el consumo de las carnes adobadas. En El Salvador es común el comercio de estas ya que son del agrado del público y se encuentran ampliamente distribuidos en el área de San Salvador, en las diferentes cadenas de supermercados.

Sin embargo, estos productos al no tener una cocción adecuada pueden convertirse en un riesgo para la salud del consumidor, debido a la presencia de microorganismos patógenos, que pueden presentar ciertos niveles de resistencia a antibióticos.

Por ello, en la presente investigación se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en muestras de carne de res adobada comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador y posterior se identificó el perfil de resistencia a antibióticos.

Para ello, se seleccionaron los supermercados a muestrear, clasificados en estratos (según cadena comercial), utilizando un muestreo aleatorio simple.

Previo a recolección de muestras se evaluaron las condiciones higiénicas de las áreas de despacho de supermercados en estudio haciendo uso de una lista de chequeo de implementación de prácticas higiénicas. Se obtuvieron muestras con adobos diferentes, y se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, y *Listeria monocytogenes*, empleando métodos de ensayo y análisis establecidos en el Manual de Análisis Bacteriológico (BAM, siglas en inglés), los resultados fueron comparados con el grupo numero 8 carnes y productos cárnicos, subgrupo 8.3 que especifica los parámetros para productos

cárnicos crudos descritos en Norma RTCA 67.04.50:08 Límites Microbiológicos Sanitarios especificados en I “Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos”. Posteriormente se identificó el perfil de resistencia a antibióticos de las cepas aisladas, a través del método de difusión en disco Kirby Bauer frente a 12 antibióticos (Amoxicilina+ ac. Clavulánico, Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Kanamicina, Gentamicina, Norfloxacin, Sulfametoxazole/trimetroprim, Penicilina G, Tetraciclina, Eritromicina, Cloranfenicol, Neomicina) obteniendo diámetros de inhibición al rededor del disco, mismos que son medidos e interpretados en la categoría de: sensible, intermedio o resistente (S; I o R) según lo establecido en la normativa que describe National Comitee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), dichos perfiles se describen a continuacion:

Las cepas aisladas de *Escherichia coli* presentan multirresistencia a siete antibióticos (amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, gentamicina, penicilina, tetraciclina, eritromicina y cloranfenicol).

Las cepas de *Salmonella spp*, son multirresistentes a 8 antibióticos (amoxicilina + ácido clavulánico, ácido nalidíxico, ampicilina, kanamicina, norfloxacin, penicilina, tetraciclina, eritromicina).

Las cepas de *Staphylococcus aureus* son multirresistentes a siete antibióticos (amoxicilina + ácido clavulánico, ácido nalidíxico, kanamicina, gentamicina, penicilina, tetraciclina, cloranfenicol).

Todas las determinaciones especificadas se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador. La investigación se realizó en el primer semestre del año 2017.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la resistencia antimicrobiana de cuatro patógenos aislados de carne de res adobada.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Describir las condiciones higiénicas del área y personal de despacho de las carnes en supermercados seleccionados de la zona metropolitana de San Salvador, a través de una lista de chequeo de Buenas Prácticas Higiénicas.

2.2.2 Analizar la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*, en muestras de carnes magras y adobadas.

2.2.3 Comparar los resultados obtenidos con los especificados en RTCA 67.04.50:08. "Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos", grupo numero 8 carnes y productos cárnicos y subgrupo 8.3.

2.2.4 Identificar el perfil de resistencia a 12 antibióticos de las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* aisladas de las carnes analizadas.

2.2.5 Realizar una comparación entre los resultados obtenidos de la resistencia microbiana de la cepa control y cepas aisladas de las muestras analizadas.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 GENERALIDADES DE CARNES ADOBADAS.

PRODUCTOS CRUDOS ADOBADOS. ⁽²⁴⁾

Productos cárnicos crudos adobados son elaborados con piezas cárnicas enteras o en trozos. Dicho producto es sometido a la acción de la sal, especias y condimentos que le confieran un aspecto y sabor característico, recubierto o no de pimientos y posteriormente protegido por un envoltente autorizado.

COMPUESTOS SABORIZANTES. ⁽²⁴⁾

Especias y condimentos: son aquellos ingredientes usados en los diversos productos para caracterizarlos por el sabor. Algunos de ellos pueden proveer característica benéfica, por ejemplo, tener algún efecto antioxidante.

Muchos aceites esenciales y otras sustancias que contienen las especias son eficaces agentes conservadores. Por ejemplo, el ajo posee aceite de mostaza, aldehído cinámico y alicina, que son sustancias bacteriostáticas eficaces.

Sin embargo, a las concentraciones que se emplean para impartir sabor en los embutidos y demás productos cárnicos, las especias carecen de acción conservadora, además de impartir a los productos cárnicos sabores y aromas característicos algunas especias tienen acción antioxidante, como, por ejemplo: la pimienta negra, el clavo, el jengibre, la nuez moscada, el romero, la salvia, y el tomillo. ⁽⁵⁾

3.2 FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE CARNE ADOBADA. ⁽²⁸⁾

Los microorganismos que podrían contaminar la carne pueden encontrarse en todo lugar: en los animales, en los seres humanos, en el aire, en la tierra, en el agua. La carne de buena calidad, seguro para consumo humano, es el resultado de reconocidas prácticas sanitarias observadas a lo largo de todas las etapas del proceso, desde el sacrificio hasta el adobado. El número de bacterias presentes en el producto final refleja las condiciones sanitarias bajo las cuales la carne ha sido sometida y permite determinar el periodo de preservación de esta. En la carne adobada, además de los microorganismos propios de su alteración, se pueden encontrar gérmenes perjudiciales para la salud del hombre, procedentes de animales enfermos o de malas manipulaciones durante su preparación: *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *lisyteria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*.

3.3 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETAS). ⁽²⁵⁾

La alteración de un alimento depende de factores relacionados principalmente con la cantidad de nutrientes que contiene, el pH, el agua, las condiciones ambientales como humedad, temperatura, almacenamiento y otros factores que se deben considerar en el momento de su elaboración. En cualquiera de esas etapas el alimento puede ser alterado y constituir un riesgo para el consumidor llegando a ocasionar brotes de las enfermedades conocidas como: Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las ETAS son enfermedades transmitidas por alimentos que se definen como «*El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua o alimentos que contengan agentes*

biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas».

La incidencia y las causas de las enfermedades originadas por la ingestión de alimentos representan un riesgo al cual está sujeta toda la población y son uno de los problemas de salud pública en el mundo. Sin embargo, los alimentos, incluyendo las bebidas, están expuestos a factores que causan e incrementan su deterioro, contaminándose física, química o biológicamente, lo cual ocasiona su alteración y aumenta la peligrosidad.

Las especies microbianas que habitualmente acompañan a la carne pertenecen a los géneros: *Pseudomonas, Achromobacter, Streptococcus, Micrococcus, Sarcina, Leuconostoc, Flavobacterium, Proteus, Escherichia, Bacillus, Clostridium, Chromobacterium, Streptomyces, levaduras (Saccharomyces, Rhodotonda, Candida), mohos (Sporotricum, Cladosporium, Mucor, Geotricum, Penicillium, Alternaria, Monilia, Aspergillus, Thamnidium).*

3.3.1 CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETAS). (25)

Las ETAS tienen un corto período de incubación, los síntomas de las intoxicaciones se manifiestan rápidamente, entre 2 y 4 horas, mientras que las infecciones necesitaran 24 horas que es el tiempo que necesitan las bacterias para multiplicarse de forma importante dentro del organismo (generalmente en el intestino).

Según su origen se clasifica en:

Infecciones alimentarias: son infecciones transmitidas por alimentos, es decir que resultan de la ingestión de alimentos o agua contaminada con

microorganismos como bacterias y parásitos. Estos colonizan el tracto digestivo y causan una lesión tisular. Por ejemplo: salmonelosis, Listeriosis. Microorganismos: *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli*.

Intoxicaciones alimentarias: son las producidas por la ingesta de alimentos o agua contaminada con cantidades suficientes de toxinas o venenos producidos por la proliferación bacteriana, agentes químicos (metales pesados y otros compuestos orgánicos) que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional, en cualquier momento de su producción hasta su consumo. Ejemplos: botulismo, intoxicación estafilocócica o por toxinas producidas por hongos.

Microorganismo: *Staphylococcus aureus*, *E. coli*

Toxiinfecciones: Es una combinación de las dos anteriores, una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos. Ejemplos: cólera. Microorganismo: *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Listeria*.

3.4 GENERALIDADES DE MICROORGANISMOS.

Los microorganismos más comunes que han causado la mayoría de los casos de enfermedades alimentarias son:

3.4.1 COLIFORMES. ⁽⁶⁾

Se identifican para detectar la presencia de *Escherichia coli* o de variantes estrechamente relacionadas sin necesidad de purificar los medios de cultivo o de proceder a ensayos posteriores. Pueden desarrollarse y fermentar la lactosa a

temperaturas superiores a la normal (44-44,5 °C). A este grupo pertenecen *Escherichia coli* de los tipos serológicos I y II y son, por lo tanto, útiles para indicar una posible fuente fecal. Son indicadores de limpieza y desinfección inadecuadas o de una industrialización o preparación incorrecta de alimentos, favoreciendo la multiplicación de organismos patógenos.

3.4.1.1 *Escherichia coli*.⁽²⁴⁾

Es un agente causal de enfermedad alimentaria, que puede ser solo infección, pero también, el microorganismo puede producir una toxina una vez ha invadido el intestino del huésped. El tipo de *Escherichia coli* presente en productos cárnicos ha sido designada como *O157:H7*.

Hábitat y distribución: normalmente se encuentra en el tracto intestinal de animales y del hombre, es comúnmente utilizado como indicador de contaminación fecal en productos alimenticios y en aguas.

Necesidades de crecimiento: es una bacteria Gram negativa, facultativa, la cual puede crecer a temperaturas tan bajas como las de refrigeración (1 - 5°C).

Entre los factores implicados en esta infección se encuentran: la deficiente cocción de los alimentos, la falta de normas de higiene por parte de los manipuladores y del mismo consumidor, la falta de eliminación de aguas residuales de manera adecuada, la demora en la refrigeración de los alimentos, una vez han sido preparados y las contaminaciones cruzadas.

Los principales productos de origen cárnico implicados son la carne de hamburguesa y productos a base de salmón, y en general todo producto que sea manipulado bajo escasas normas higiénicas

El patrón de sensibilidad a los antibióticos de *Escherichia coli* generalmente es a: ácido nalidíxico, amikacina, amoxicilina – clavulánico, ampicilina, ciprofloxacina

5 µg, cloranfenicol, estreptomina, gentamicina, kanamicina, tetraciclina, trimetropin – sulfametoxazol. ⁽¹³⁾

3.4.2 *Staphylococcus aureus*. ⁽²⁵⁾

Agente causal de intoxicación alimentaria.

Hábitat y distribución: en el hombre, el principal reservorio de este microorganismo es la cavidad nasal, desde donde pasa a la piel. También se encuentra en ojos, garganta y tracto gastrointestinal. Desde cualquiera de estas localizaciones, pasa a contaminar los alimentos.

Necesidades de crecimiento: es un microorganismo anaerobio facultativo, en general, mesófilo, pero para la producción de enterotoxinas necesita una temperatura entre 40 y 45 °C. Resiste concentraciones de NaCl hasta de 20% en algunas cepas.

Entre los principales factores implicados en esta intoxicación se cuentan: la insuficiente refrigeración, la preparación de los alimentos con excesiva anticipación al consumo, las deficientes prácticas de higiene personal de los manipuladores del alimento, la cocción o tratamiento térmico insuficiente y la retención del alimento en dispositivos para mantenerlo caliente durante largos periodos de tiempo.

Entre los alimentos de origen cárnico implicados en esta intoxicación, se encuentran, las carnes preparadas de cerdo, pollo, pavo, res y los productos cárnicos curados semisecos.

El patrón de sensibilidad a los antibióticos de *Staphylococcus aureus* generalmente es a: amikacina, ampicilina, estreptomina, gentamicina, kanamicina, vancomicina, penicilina, metilicina, clindamicina. ⁽¹³⁾

3.4.3 *Salmonella spp.* ⁽¹⁵⁾

Agente causal de infección alimentaria.

Hábitat y distribución: la contaminación de los alimentos con este microorganismo es muy común pues los seres humanos, aves de corral, gatos y cerdos pueden ser portadores asintomáticos de la bacteria, aunque los principales implicados en esta infección son las aves, los huevos y los roedores.

Necesidades de crecimiento: microorganismo mesófilo, aerobio y termosensible. Entre los principales factores implicados en esta infección alimentaria se cuentan: el consumo de carnes crudas, la contaminación de alimentos cocidos dada la manipulación inadecuada, las malas prácticas de aseo y desinfección de los manipuladores, los tratamientos deficientes a alimentos que contengan huevos o carne contaminada.

Los alimentos de origen cárnico a través de los cuales se puede transmitir esta infección son principalmente los que contengan carne de pollo, carnes frescas de cerdo, bovino, alimentos marinos, productos cárnicos como empanadas de carne, picadillos, carnes curadas y adobadas.

El patrón de sensibilidad a los antibióticos de *Salmonella spp.* generalmente es a: ácido nalidíxico, amikacina, amoxicilina – clavulánico, ampicilina, cefalotina, ciprofloxacina, cloranfenicol, colistina, eritromicina, estreptomina, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoína, penicilina G, tetraciclina, ticarcilina, tobramicina. ⁽¹³⁾

3.4.4 *Listeria monocytogenes.* ⁽²¹⁾

Agente causal de infección alimentaria.

Hábitat y distribución: microorganismo ampliamente distribuido en la naturaleza, incluyendo suelo, agua y vegetación, puede también encontrarse en animales,

humanos, víveres y en el medio ambiente de plantas procesadoras de carnes rojas y pollos.

Necesidades de crecimiento: microorganismo psicrófilo, oportunístico e invasor. Bacteria Gram positiva, no forma esporas y crece mejor con bajas cantidades de oxígeno, pero también prolifera en presencia abundante o ausencia de él. Sobrevive a periodos de almacenamiento en refrigeración y crece a temperaturas tan bajas como 0°C.

Puede crecer a valores de pH entre 5.0 y 9.5, sobrevive a altas concentraciones de sal por largos periodos de tiempo y es relativamente resistente a la deshidratación.

Los principales factores implicados en la transmisión de esta infección son: las malas prácticas de higiene, tanto de los manipuladores como de los equipos y utensilios y la planta procesadora en general, el consumo de productos de origen animal crudos y los tratamientos térmicos deficientes.

En general, los músculos de todos los animales pueden ser portadores de este microorganismo, pero es de mayor incidencia en carnes de pollo y pavo, también en carnes de res, oveja, especies de origen marino, en salchichas, productos cárnicos cocidos, en productos secos y semisecos.

El patrón de sensibilidad a los antibióticos de *Listeria monocytogenes* generalmente es a: ácido nalidíxico, amikacina, amoxicilina – clavulánico, ampicilina, cefalotina, ciprofloxacina, cloranfenicol, colistina, eritromicina, estreptomina, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoína, penicilina G, tetraciclina, ticarcilina, tobramicina, trimetropina – sulfametoxazol, vancomicina.

3.5 RESISTENCIA ANTIBIOTICA. ⁽¹³⁾

La resistencia bacteriana en contra de los antibióticos se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial. El desarrollo de nuevos fármacos antibacterianos además de su uso indiscriminado e irracional ha ido incrementando esta resistencia, sin mencionar la presión evolutiva ejercida por el uso terapéutico. Tal parece que el descubrimiento de nuevos antibióticos resuelve el problema, sin embargo, aparecen nuevos mecanismos de resistencia difíciles de controlar.

Los antibióticos son una droga antimicrobiana que debe ser mucho más tóxica para el organismo que está causando la infección que para las células del hospedero. La toxicidad selectiva se obtiene por medio de la acumulación de niveles más altos de la droga en el microorganismo que en las células humanas, de la acción específica de la droga sobre estructuras celulares o procesos bioquímicos que solo ocurren en el microorganismo, o por medio de una acción de la droga sobre procesos bioquímicos que son más críticos para el microorganismo que para las células humanas.

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

3.5.1 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA A ANTIBIÓTICOS. ⁽¹¹⁾

Causas del mal uso de antimicrobianos y su vinculación con la generación de bacterias resistentes.

Cuadro N° 1. listado de posibles causas de fracaso antibiótico en el uso veterinario.

Causas de fracaso antibiótico	Uso veterinario
Uso de antibióticos cuando no son necesarios	Es frecuente y está estrechamente vinculado con diagnósticos incorrectos. Mucho se ha comentado sobre el hecho de que los veterinarios pueden ser también vendedores de productos, y eso podría tener algún tipo de influencia en los niveles de prescripción dado que la venta del producto es parte de la ganancia del profesional
No se indica dosis a la persona que aplicará el medicamento	La dosis queda librada al criterio de la persona a cargo del tratamiento, que en muchos casos no está capacitada para tomar ese tipo de decisiones
Uso de medicamentos de mala calidad	No existe una buena biodisponibilidad y bioequivalencia de fármaco en el animal.
Duración del tratamiento	Si el tratamiento es demasiado largo, corremos el riesgo de seleccionar bacterias resistentes. Por otra parte, si el tratamiento es demasiado corto, seguramente fallará la terapia.
Dosis incorrecta	Puede ser elevada o baja. Si la dosis es elevada, estando el producto bien seleccionado, lo mismo que los intervalos y la duración del tratamiento, es probable que el problema final sea solamente la pérdida de dinero en droga ineficiente (aunque no se debe descartar los riesgos de toxicidad) El caso de la dosis baja es más problemático. Aquí aun cuando los intervalos sean correctos y la duración del tratamiento también, los riesgos aumentan (además, es difícil que, si la dosis calculada resulta baja, los intervalos sean los correctos). Dependiendo del tipo de droga de que se trate, esa dosis baja repercutirá probablemente en la selección de bacterias resistentes.

Cuadro N° 1. Continuación listada de posibles causas de fracaso antibiótico en el uso veterinario.

Causas de fracaso antibiótico	Uso veterinario
Intervalo entre dosis	Si el intervalo es demasiado corto, habrá una acumulación de droga y los niveles serán demasiado elevados, el tratamiento puede ser exitoso, pero puede haber riesgos de toxicidad y. Si el intervalo, por otra parte, es demasiado largo, las concentraciones de droga activa caerán por debajo de las necesarias durante un período demasiado largo y eso llevará al fracaso terapéutico

La resistencia a múltiples sustancias es un problema de salud pública, agricultura y ganadería que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos.

El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos, desinfectantes y germicidas ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficiencia la acción bactericida de algunos agentes. En la actualidad se intenta dilucidar si hay mecanismos compartidos entre antibióticos, antisépticos y desinfectantes que les permita a las bacterias y otros microorganismos activar genes que potencialmente expresen los mecanismos propuestos hasta ahora como respuesta evolutiva a la intervención humana.

Se ha obtenido un avance considerable en la comprensión de la respuesta de las bacterias a los bactericidas. La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo (intrínseca) o conseguida por mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extra cromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles). Los genes de resistencia naturales en plásmidos, se originan como mutaciones puntuales en los genes blanco (sitios de inserción de los genes de resistencia) de bacterias

susceptibles y también de genes que les proveen protección contra otras bacterias.

Son múltiples los factores que han contribuido al desarrollo de cepas bacterianas resistentes. Los médicos comparten responsabilidad en la problemática al recetar antibióticos para infecciones que son virales o autolimitantes y que no necesitan tratamiento. También el uso de antibióticos modernos y de amplio espectro en situaciones en las que el uso de antibióticos más específicos tendría el mismo resultado, contribuye a la rápida aparición de cepas bacterianas resistentes. El uso diseminado en el campo de la agricultura y en animales ha saturado el medio ambiente con antibióticos y ha acelerado el problema.

3.5.2 MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS. ⁽¹³⁾

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

- Producen enzimas que destruyen al fármaco activo.
- Cambian su permeabilidad al fármaco.
- Alteran estructuralmente el "blanco" del fármaco.
- Desarrollan una vía metabólica diferente que pasa por alto la reacción inhibida por el fármaco.
- Desarrollan una enzima diferente que todavía puede ejecutar su función metabólica, pero es mucho menos afectada por el fármaco.

3.5.2.1 ORIGEN DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS. ⁽¹³⁾

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

Resistencia de origen no genético a los fármacos.

La mayor parte de los antibacterianos requieren bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones. Por consiguiente, los microorganismos

metabólicamente inactivos (fuera de su estado de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su descendencia es completamente susceptible.

RESISTENCIA DE ORIGEN GENÉTICO A LOS FÁRMACOS.

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

El uso de antibióticos en los animales productores de alimentos genera residuos en carnes, leche y huevos que pueden producir efectos tóxicos directos. Los principales grupos de antibióticos usados con fines terapéuticos en animales productores de alimentos que pueden originar residuos son las penicilinas, cefalosporinas, quinolonas, macrólidos, florfenicol y compuestos relacionados, tetraciclinas, pleuromutilinas, lincosamidas, aminoglucósidos, inhibidores beta lactamasa (ácido clavulánico), polimixinas y sulfamidas. Los residuos de antibióticos en el alimento constituyen una variedad de riesgos para la salud humana.

3.6 LIMITACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS. ⁽¹³⁾

En toda infección el surgimiento de la resistencia a los fármacos puede reducirse al mínimo de las siguientes maneras: 1) mantener concentraciones del fármaco en los tejidos lo bastante grandes para inhibir la población nativa y la primera generación de mutantes; 2) administrar simultáneamente dos fármacos que no produzcan resistencia cruzada para que cada uno retarde el surgimiento de cepas mutantes resistentes al otro fármaco (por ejemplo, rifampicina e isoniacida en el tratamiento de la tuberculosis); y 3) evitar la exposición de los microorganismos a un fármaco particularmente valioso, cuyo empleo debe limitarse principalmente a los hospitales.

3.7 ANTIBIÓTICOS DE USO FRECUENTE PARA EL TRATAMIENTO DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*

Cuadro N° 2. Antibióticos de uso frecuente para el tratamiento de *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. ^{(2),(6),(21),(22)}

N°	Antibiótico	<i>E coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
1	Amoxicilina+ac.clavulanico	X		X	X
2	Ampicilina	X	X	X	X
3	Cloranfenicol	X		X	X
4	Ciprofloxacina	X	X	X	X
5	Eritromicina		X	X	X
6	Gentamicina	X	X	X	X
7	Kanamicina	X	X	X	X
8	Ácido nalidixico	X		X	X
9	Oxitetraciclina				X
10	Penicilina G		X	X	X
11	Rifampicina				X
12	Estreptomicina	X	X		X
13	Sulfametoxazol-trimetropin	X	X	X	X
14	Tetraciclina	X	X	X	X
15	Vancomicina		X		X
16	Amikacina	X	X	X	X
17	Cefalotina			X	X
18	Nitrofurantoina			X	X
19	Meticilina		X		

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO.

El tipo de estudio fue transversal y experimental.

- Transversal: porque se llevó a cabo durante el segundo semestre del año 2017, estudiando el perfil de resistencia a antibióticos de cepas de, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en tres tipos de carne de res adobada comercializadas en los supermercados de la zona metropolitana de San Salvador.
- Experimental: porque los análisis microbiológicos y la determinación de perfil de resistencia a 12 antibióticos a las cepas obtenidas de carnes magras y adobadas que se recolectaron de los principales supermercados del área metropolitana de San Salvador se realizaron en el Laboratorio de Microbiología en Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Se tomó en consideración fuentes importantes de información de las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco, de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de las Ingenierías de la Universidad de El Salvador.
- Central, de la Universidad de El Salvador.
- Universidad Alberto Masferrer (USAM).
- Universidad Nueva San Salvador (UNSSA).

- Universidad Dr. José Matías Delgado.
- Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA).
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO. ⁽³⁾

4.3.1 UNIVERSO Y MUESTRA.

Universo: carne de res magra y adobada, distribuidas en 71 supermercados de la zona metropolitana de San Salvador.

Muestra: carne de res magra y adobada de los supermercados seleccionados.

4.3.2 MUESTREO

Se realizaron visitas a los diferentes supermercados que comercializan carnes adobadas en la zona metropolitana de San Salvador con el objetivo de verificar los tipos de adobo que presentan mayor demanda en las sucursales, dicha verificación se desarrolló en dos fases, las cuales se describen a continuación:

Fase I: identificación de carnes adobadas de mayor consumo por la población que visita los supermercados. Se realizó un sondeo previo en cuatro sucursales de tres cadenas de supermercados para verificar por observación directa el tipo de carne adobada que es preferida por los clientes; siendo esta la del tipo criollo, churrasco y suavizado económico.

Fase II: selección de los puntos de muestreo, para la recolección de muestras, la cual fue realizado aplicando el método de muestreo estratificado. Se clasificaron los supermercados por estratos (4), en donde se eligieron las sucursales al azar: dos del estrato 1, y uno de los estratos 2, 3 y 4, donde se colectaron 22 muestras, incluyendo carnes magras de cada punto que fue

muestreado, para utilizarlas como control, para determinar el tamaño de la muestra es utilizada la siguiente ecuación. ⁽³⁾

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N-1) + Z^2pq}$$

Dónde:

N: tamaño del universo

Z: grado de confianza del 95%

pq: desviación típica o estándar de la población (0.5)

d: error muestral máximo permisible en la investigación (0.5)

Así:

$$n = \frac{71(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(71-1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)} = \frac{68.1884}{18.6604} = 3.65 \approx 4$$

El porcentaje representativo de cada estrato dentro del total de puntos de muestreo a visitar se obtuvo así:

$$\% = \frac{Ni}{N} \times 100$$

Dónde:

Ni: número de supermercados por estrato.

N: número de supermercados en el universo.

pq: desviación típica o estándar de la población (0.5)

d: error muestral máximo permisible en la investigación (0.5)

Así:

$$\% = (39/71) \times 100 = 55\% \text{ representación porcentual de un estrato.}$$

Cuadro N° 3. Línea comercial de supermercados de la zona metropolitana de San Salvador y muestreo por estrato.

Línea comercial de supermercados			Supermercados muestreados por estrato	
N° de Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)	Cálculo	N° de Supermercados
1	$(39/71) * 100$	55	$4(0.55)$	2
2	$(17/71) * 100$	24	$4(0.24)$	1
3	$(3/71) * 100$	4	$4(0.04)$	1 *
4	$(12/71) * 100$	17	$4(0.17)$	1
	Total	100		5

*Esta muestra se tomó para tener por lo menos un lugar representativo de cada estrato.

La unidad muestreada por cada estrato se obtuvo de la siguiente forma:

$$ni = n \frac{Ni}{N}$$

Dónde:

Ni: número de supermercados por estrato.

N: número de supermercados en el universo.

n: tamaño de muestra

ni: número de supermercados a muestrear por estrato

Así por estrato 1

$$ni = 4 \left(\frac{39}{71} \right) = 2.19 \approx 2 \text{ supermercados para muestrear en el estrato 1.}$$

4.4 DESCRIPCIÓN DE LAS CONDICIONES HIGIÉNICAS DEL ÁREA Y PERSONAL DE DESPACHO DE LAS CARNES EN SUPERMERCADOS SELECCIONADOS. ^{(9), (12)}

Se realizó el chequeo de Buenas Prácticas Higiénicas (BPH) en cada uno de los supermercados muestreados por estrato. Por observación se evaluó: ubicación y

alrededores, vestuario del personal, higiene del personal y cámaras refrigerantes, obteniendo un total de 10 lista de chequeo aplicadas. (Ver anexo N° 1).

4.5 RECOLECCIÓN DE MUESTRA.

Se realizaron dos muestreos en fechas diferentes: en el primer muestreo se recolectaron 10 muestras y en el segundo 12 muestras, haciendo un total de 22 muestras, según el detalle del cuadro N° 4 y figura N° 1.

Cuadro N° 4. Número de muestra que se tomaron por estrato, tipo de carne adobada y magra.

Tipo de adobo								
Primer muestreo					Segundo muestreo			
N° de estrato	Criollo	Churrasco	Jalapeño	Magra	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Magra
E1	0	0	0	0	0	0	0	0
E2	1	1	0	1	1	1	1	1
E3	1	1	1	1	1	1	1	1
E4	1	1	0	1	1	1	1	1
Total	3	3	1	3	3	3	3	3

Una de las dificultades al momento de la toma de muestras fue que en las sucursales del supermercado del estrato 1, no tenían a disposición ningún tipo de carne adobada en las fechas que se realizaron ambos muestreos.

En el primer muestreo en las sucursales de los estratos 2, 3 y 4 no se tenían a la venta carne adobada tipo suavizado económico, sustituyéndose por el adobo tipo jalapeño por existencia.

En cada uno de los muestreos, se recolectó una muestra de carne magra por estrato con el fin de hacer un comparativo con los resultados obtenidos de las carnes adobadas. (Ver anexo N° 2).

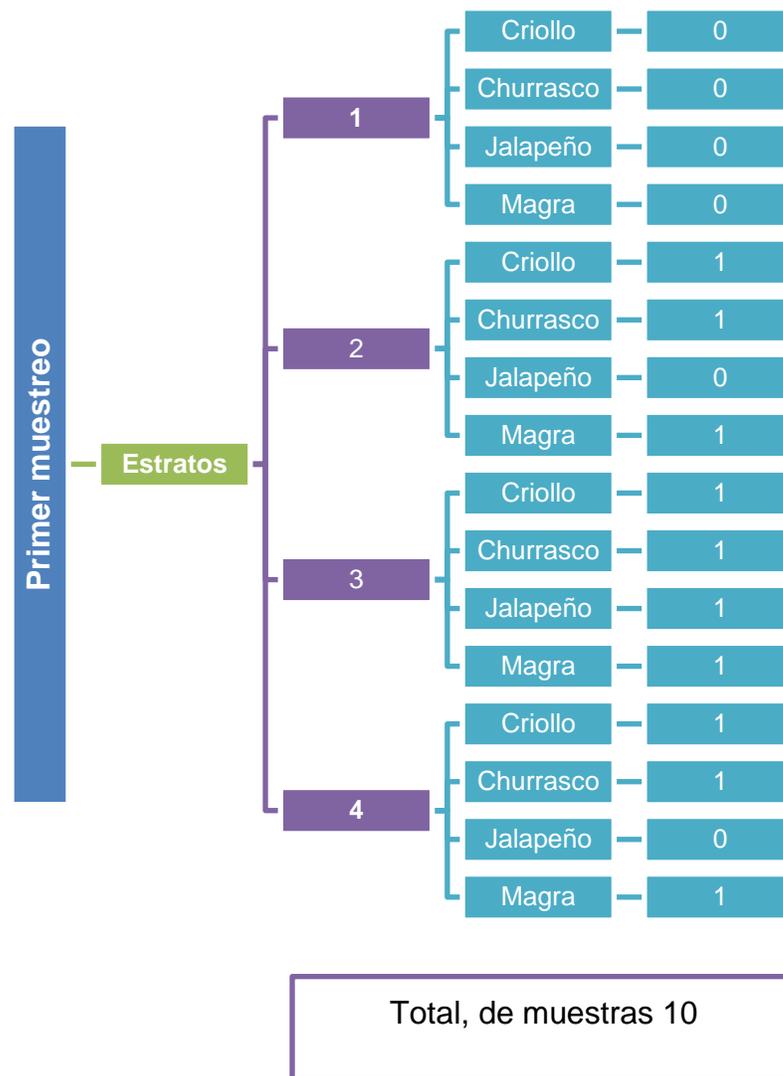


Figura N° 1. Muestreo por estrato y tipo de carne.

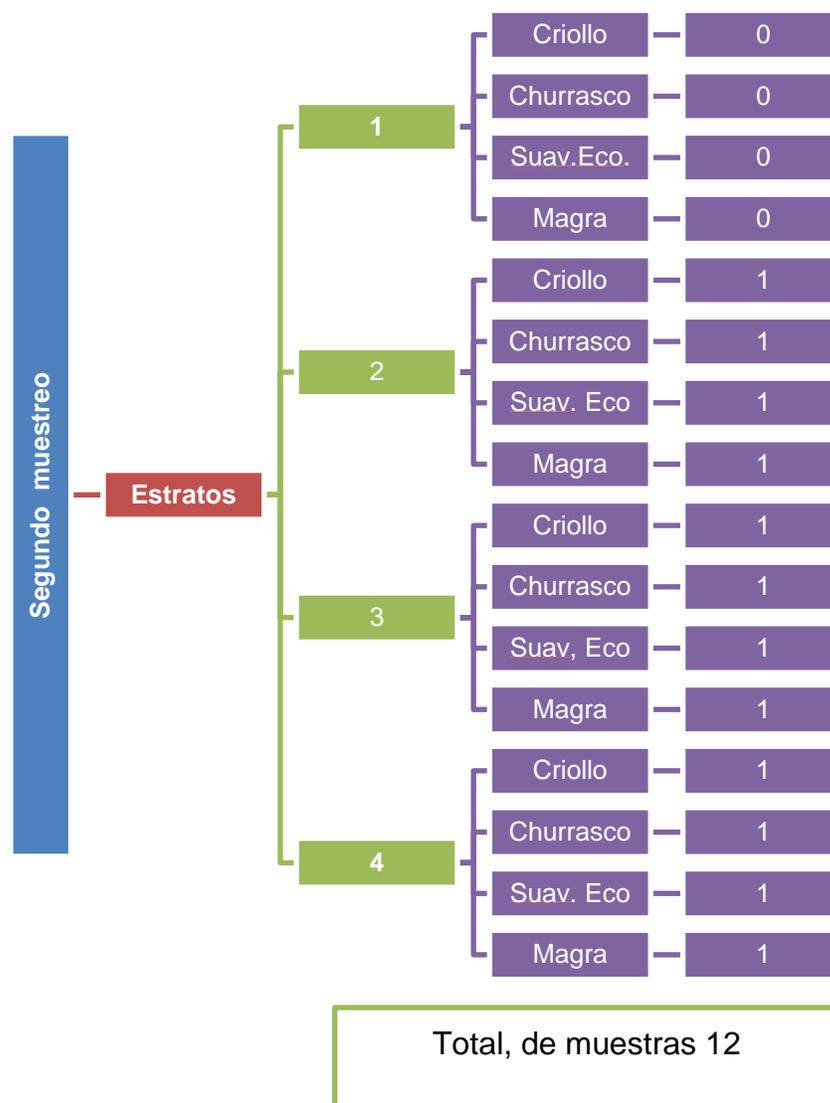


Figura N° 1. Continuación

4.6 PARTE EXPERIMENTAL.

Las muestras fueron etiquetadas, codificadas y transportadas en una hielera hermética, limpia y desinfectada al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), para los correspondientes análisis.

Materiales, equipo y reactivos (ver anexo N°3)

4.6.1 DETERMINACIÓN DE pH ^{(16) (28)} (ver anexo N° 4)

- Se pesaron 10 g de carne. Se transfirieron a una bolsa plástica y se adicionaron 100 mL de agua destilada. Se homogenizó en stomacher a 260 rpm durante 3 minutos.
- Luego se filtró empleando gasa.
- Se tomó la lectura de pH del filtrado por duplicado.
- La diferencia máxima permisible en el resultado de pruebas efectuadas por duplicado no excedió de 0.1 unidades de pH.

4.6.2 PREPARACIÓN DE DILUCIONES PARA PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS ⁽¹⁶⁾ (ver anexo N°5)

- Se pesaron 25 gramos de carne de res magra y adobada de manera aséptica, respectivamente.
- Se añadieron 225 mL de agua peptonada buferada, se mezcló durante 3 minutos en stomacher a 260 rpm. (Dilución 10^{-1}).
- De la dilución 10^{-1} se tomaron 10 mL y se añadieron a 90 mL de agua peptonada buferada. (Dilución 10^{-2}).
- Se preparó una tercera dilución (Dilución 10^{-3}) a partir de la dilución anterior.

4.6.3 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

4.6.3.1 ENUMERACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y *Escherichia coli* ⁽¹⁷⁾ (Ver anexo N°6).

Fase presuntiva.

- Se transfirió 1 mL de cada dilución (Dilución 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). a placas Petri estériles y vacías.

- Se añadieron 15 mL de agar bilis y rojo violeta (VRBA) a una temperatura aproximada de 45°C en cada placa. Se mezcló en forma de ocho y se dejó solidificar.
- Se añadió una capa de 5 mL de VRBA adicional y se dejó solidificar.
- Las placas fueron invertidas y se incubaron de 18 – 24 horas, a una temperatura de 35°C.
- Las placas fueron examinadas en una cuenta colonias, bajo lupa y con buena iluminación.
- Se contaron las colonias de color rojo – púrpura de 0.5 mm de diámetro y rodeadas de una zona de precipitación de ácidos biliares. Se tomaron en cuenta las placas con una carga más o menos de 25 a 250 colonias.
- Se determinó el número de coliformes totales presentes en la muestra multiplicando el promedio de las placas por el factor de dilución de la muestra. (Ver anexo N° 7).

Fase confirmativa para coliformes fecales y Escherichia coli (17)

- De las colonias sospechosas de la prueba presuntiva de coliformes se seleccionaron cuatro colonias y se transfirieron cada una a un tubo de caldo EC.
- Se incubaron los tubos con caldo EC a 44.5°C ± 0.5 °C y se verificó la producción de gas y turbidez después de un periodo de incubación de 24 a 48 horas.

Fase complementaria para la determinación de Escherichia coli (17)

- Se agitó suavemente cada tubo de caldo EC con presencia de gas y turbidez.
- A partir de los tubos de EC positivos, se estrió en una placa de agar de Eosina azul de metileno (EMB) y se incubó durante 18 a 24 horas a 35 °C.

- Se examinaron las placas con colonias sospechas de *Escherichia coli*. (colonias planas con centro obscuro con brillo metálico).
- Las colonias con características de *Escherichia coli*, se transfirieron a Plate Count Agar (PCA) para realizar las pruebas bioquímicas. (Ver anexo N°8).

4.6.3.1.1 PRUEBAS BIOQUÍMICAS CONFIRMATIVAS PARA *Escherichia coli*.⁽¹⁷⁾

Para la confirmación de *Escherichia coli*, en las pruebas bioquímicas se utilizó el inóculo de p inclinado y referencia establecida según AOAC.⁽¹⁷⁾ **(Ver cuadro N°5).**

Indol.

- Se inculó un tubo de caldo triptona. Se incubó 24 ± 2 horas a 35°C .
- Después de incubación, se adicionaron de 0.2 – 0.3 mL de reactivo Kovacs. La aparición de un anillo color rojo en la parte superior del caldo indica resultado positivo para Indol.

Voges – Proskauer (VP)

- Se inculó caldo MR-VP y se incubó 48 ± 2 horas a 35°C .
- Después del periodo de incubación se añadieron 0.6 mL. de solución de α -naftol y 0.2 mL. de KOH 40% y se agitó.
- La prueba es positiva si el color rosa de la eosina se desarrolla en el medio.

Rojo de metilo

- Se añadieron 5 gotas de solución de rojo de metilo al tubo inculado con la colonia sospechosa.
- Se incubó de 48 ± 2 horas.
- La aparición de un color rojo es reacción positiva.

Citrato

- Con ayuda de un asa en punta se inoculó por picadura el agar citrato hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.
- Se tapó el tubo ligeramente y se incubó aeróbicamente a 37°C, por 24 horas.
- La reacción es positiva si existe cambio de coloración de verde a azul.

Agar TSI

- Con ayuda de un asa en punta se inoculó por picadura el agar TSI hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.
- Se incubaron los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
- Posteriormente, se tomó lectura de los resultados: el cambio de color en el fondo y superficie, producción de gas y de sulfuro de hidrógeno (color negro)

Cuadro N° 5. Pruebas bioquímicas para la confirmación de *Escherichia coli*, referencia según AOAC.

Microorganismo	Pruebas bioquímicas				
	Indol	Voges – Proskauer	Rojo de Metilo	Citrato	Agar TSI
<i>Escherichia coli</i> (17)	Positiva	Negativa	Positiva	Negativo	Positivo
Referencia según AOAC	color rojo en la interfaz cultivo	Ausencia de color rojo	Color rojo	Color verde del medio	Producción de gas y de sulfuro de hidrógeno (color negro)

4.6.3.2 Determinación de *Staphylococcus aureus*. (18)

Se utilizó la dilución 10^{-1} del apartado de la preparación de la muestra para iniciar la determinación de *Staphylococcus aureus*. (Ver anexo N° 9)

Aislamiento de *Staphylococcus aureus*. ⁽¹⁸⁾

- De la dilución 10^{-1} se transfirió asépticamente 1 mL que se distribuyó equitativamente (0.3, 0.3 y 0.4 mL) en tres placas con agar Baird Parker.
- El inóculo y se distribuyó sobre la superficie del agar usando un rastrillo de vidrio en L. Se dejaron las placas en posición horizontal hasta que el agar absorbiera el inóculo.
- Se incubaron las tres placas (de forma invertida) durante 48 horas a una temperatura de 37°C.
- Las placas fueron examinadas con un cuenta colonias y se seleccionaron aquellas que contenían de 10 a 100 colonias con apariencia típica de *Staphylococcus aureus*
- Cinco colonias típicas fueron seleccionadas para su confirmación.

4.6.3.2.1 Prueba de confirmación

Prueba de coagulasa. ⁽¹⁸⁾

- Se transfirieron cada una de las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* en tubos que contenían 0.5 mL de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) y se emulsionó completamente.
- Se incubó el cultivo que contiene BHI a una temperatura de 35 - 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas. Luego se agregó 0.5 mL de plasma y se mezcló completamente.
- Posteriormente, se incubaron a una temperatura de 35 - 37°C y se examinaron por un período de 24 horas, para observar si hay formación de coágulo. Si este es firme y completo al invertirse es considerado positivo para *Staphylococcus aureus*. La coagulación parcial se clasifica con un 2+ y 3+, dependiendo del coágulo formado.

- Los resultados positivos se multiplicaron por el número de colonias de cada placa por el factor de dilución de la muestra. Y así reportar el resultado como el número de *Staphylococcus aureus* por gramo de muestra probado (UFC/g).

Prueba de la Catalasa. ⁽¹⁸⁾

- Con un palillo o asa descartable se pincha el centro de una colonia pura de 18 - 24 horas y se colocó sobre el portaobjetos de vidrio, limpio y seco.
- Se agregó con gotero una gota de agua oxigenada al 3%. Observándose la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).

4.6.3.3 Determinación de *Salmonella spp.*

- Se utilizó la dilución 10^{-1} del apartado de la preparación de la muestra para iniciar la determinación de *Salmonella spp.* Se incubó por 24 ± 2 horas a 35°C .

Aislamiento de *Salmonella spp.* ⁽¹⁵⁾ **(Ver anexo N°10).**

- Se agitó suavemente la mezcla incubada.
- Se transfirió 0.1 mL de la mezcla incubada a 10 mL de Caldo Rappaport-Vasiliadis (RVS). Se incubó el Caldo (RVS) por 24 ± 2 horas a $42 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.
- Paralelamente se transfirió en otro tubo un 1mL de la mezcla incubada a 10 mL de Caldo Tetrionato (TT). Se incubó el Caldo (TT) por 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.
- Luego de la incubación, se agitaron los tubos y con asa bacteriológica se tomó una porción de Caldo TT y se estrió en Agar Xilosa lisina Desoxicolato (XLD), Agar Bismuto Sulfito (BS) y Salmonella – Shigella (SS).
- Se tomó una porción de Caldo RVS y se estrió en los agares XLD, BS y SS.

- Se incubaron las placas por 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.2^\circ\text{C}$ y se examinaron las colonias sospechosas, 3 de cada muestra.

Colonias características de *Salmonella spp.* en:

- XLD: colonias de color rojo con o sin centro negro.
- BS: colonias transparentes con halo gris, con centro negro y brillo metálico.
- SS: colonias incoloras con o sin centro negro.
- Se pasaron 3 colonias sospechosas provenientes de TT y 3 de RVS a agar TSI y MacConkey se incubaron 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

4.6.3.3.1 Pruebas bioquímicas confirmativas para *Salmonella spp.*

De las muestras que presentaron con crecimiento características de *Salmonella spp.* en agar MacConkey y TSI se tomaran para realizar las pruebas bioquímicas.

Indol

- Se inoculó un tubo de caldo triptona. Se incubó 24 ± 2 horas a 35°C .
- Después de incubación, se adicionaron de 0.2 – 0.3 mL de reactivo Kovacs. La aparición de un anillo color rojo en la parte superior del caldo indica resultado positivo para Indol.

Voges – Proskauer (VP)

- Se inoculó caldo MR-VP y se incubó 48 ± 2 horas a 35°C .
- Después del periodo de incubación se añadieron 0.6 mL. de solución de α -naftol y 0.2 mL. de KOH 40% y se agitó.
- La aparición de un color rosa indica que la reacción es positiva Voges – Proskauer, si el medio se queda amarillo la reacción es negativa.

Rojo de metilo.

- Se añadieron 5 gotas de solución de rojo de metilo al tubo inoculado con la colonia sospechosa.
- Se incubó de 48 ± 2 horas.
- La aparición de un color rojo es reacción positiva.

Citrato

- Con ayuda de un asa en punta se inoculó por picadura el agar citrato hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.
- Se tapó el tubo ligeramente y se incubó aeróbicamente a 37°C , por 24 horas.

Agar TSI

- Con ayuda de un asa en punta se inoculó por picadura el agar TSI hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.
- Se incubaron los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
- Posteriormente, se tomó lectura de los resultados: el cambio de color en el fondo y superficie, producción de gas y de sulfuro de hidrógeno (color negro)

Cuadro N° 6. Pruebas bioquímicas realizadas para confirmación de *Salmonella spp.* ⁽¹⁵⁾

Salmonella spp	Pruebas bioquímicas							
					Agar			
	Indol	Voges - Proskauer	Rojo de Metilo	Citrato	XLD	Bismuto sulfito	SS	TSI
	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
color rojo en la interfaz cultivo	Ausencia de color rojo	Color rojo	Color Azul	Colonias de color rojo de color rojo de con centro	Colonias transparentes con halo gris	Colonias incoloras con o sin centro	Producción de sulfuro de hidrógeno	

(-) = negativo, (+) = positivo

4.6.3.4 DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes*. (19)

Enriquecimiento. (19)

- Se pesaron 25 g de muestra en forma aséptica, asegurando que se represente tanto la superficie como el interior de la muestra.
- Se agregó 225 mL de caldo de enriquecimiento de *Listeria* (LEB) y se colocó en el stomacher por 3 minutos a 260 rpm.
- Se incubó a 35°C por 24 horas.

Prueba presuntiva. (19)

Nota: la muestra enriquecida y la prueba de *Listeria* (Singlepath® Lmono) deben estar a temperatura ambiente.

- Utilizando una micropipeta y una punta de pipeta desechable, se extrajo 150 µl del caldo de enriquecimiento y se dispuso la muestra en el puerto circular del dispositivo de prueba. (Ver anexo N° 11).
- Se observó el resultado de la prueba posterior a 30 minutos después de aplicar la muestra en el dispositivo.

Interpretación de resultados

- Una muestra puede considerarse positiva si en, o antes de 30 minutos, aparecen líneas rojas tanto en la prueba (T) como en el control (C).
- Una muestra puede considerarse negativa si no aparece ninguna línea roja en la zona de prueba (T), pero aparece claramente en la zona de control (C) 30 minutos después de la aplicación de la muestra al dispositivo.

Aislamiento

- Se tomó con un asa del medio de cultivo de enriquecimiento (LEB) y se estrió en medio de cultivo de Oxford (OXA) y PALCAM (PAL).
- Se incubaron las placas de agar OXA y PAL por 24 - 48 horas a 35°C, luego se refrigeraron a 4°C por 24 – 48 horas más para su óptimo crecimiento y caracterización de colonias.
- Se observó si existen colonias características de *Listeria monocytogenes* en ambos medios PAL y OXA.
- Se transfirieron cinco colonias típicas del agar PAL y agar OXA por duplicado a placas de agar tripticosa soya + 0.6% de extracto de levadura (TSAye).
- Se incubaron las placas a 35°C por 24 horas.

4.6.3.4.1 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN.

Las pruebas de identificación para *Listeria monocytogenes* fueron las siguientes:

Catalasa.

- Se seleccionó una colonia típica de una placa de TSAye con un palillo estéril y colocó sobre un portaobjeto.
- Se agregó una gota de peróxido de hidrógeno a 3% (H₂O₂). Un burbujeo en los primeros segundos indica reacción positiva.

Hemólisis.

- Se dibujó de 20 a 25 espacios en la base de la placa que contiene agar sangre de carnero al 5%.

- Para cada espacio, con asa en punta, cada una de las colonias típicas de las placas TSAye.
- Se incubó por 24 a 48 horas. Se observó si formaba un halo claro alrededor de la colonia.

Prueba de CAMP

- En placas de agar sangre se estrió un cultivo de *Staphylococcus aureus*, β hemolítico separadas lo suficiente para que entre éstas se puedan estriar perpendicularmente las cepas sospechosas de *Listeria*, sin que lleguen a tocarse (aproximadamente 5 mm de separación).
- Se incubó a 35 °C por 24 a 48 horas.
- Se examinaron las placas si existía la formación de un aumento de La hemólisis de *L. monocytogenes* en figura de “cabeza de fósforo”, que se incrementa cerca de la estría de *S. aureus*.

Movilidad.

- De las placas de TSAye, con un asa en punta se tomó una colonia y se inoculó en tubo que contenía medio motilidad.
- Se incubó por siete días a temperatura ambiente.
- Se observó diariamente y se identificó un crecimiento en forma de paraguas como patrón típico de *Listeria monocytogenes*.

Cuadro N° 7. Pruebas de identificación para *Listeria monocytogenes*. (Ver anexo N° 12).

<i>Listeria monocytogenes</i>	Pruebas de identificación			
	Catalasa	β -Hemólisis	Prueba de Camp	Movilidad
	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	Burbujeo en los primeros segundos	Halo claro alrededor de la colonia.	Cabeza de fósforo	Crecimiento en paraguas

4.7 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

Con base a los resultados obtenidos de análisis microbiológicos se hizo la comparación de cada una de las muestras de carnes adobadas con lo especificado ver cuadro N° 8.

Cuadro N° 8. RTCA 67.04.50:08. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos.

8.3 Subgrupo del alimento: productos cárnicos curados crudos (chorizo)			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	A	10 ² UFC/g
<i>Salmonella spp/ 25 g</i>	10		Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ² UFC/g

Cuadro N° 9. Criterios de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, acuerdo N° 078 00, Tegucigalpa, Honduras. ⁽³⁰⁾

Artículo 259. Los criterios microbiológicos para los productos cárnicos serán los siguientes:	
Parámetro	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	0 – 5 UFC/cm ² Negativo 5 - 100 UFC/cm ² Marginal Mayor de 100 UFC/cm ² Inaceptable
<i>Listeria monocytogenes</i>	Negativo
<i>Salmonella ssp/ 25 g</i>	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	5X10 ² /gramo inaceptable

Se consideró el criterio microbiológico de *Listeria monocytogenes* enunciado en el reglamento de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, acuerdo N° 078 00, Tegucigalpa, Honduras la para los productos cárnicos; ya que en RTCA 67.04.50:08. “Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos”, grupo numero 8 carnes y productos cárnicos no está considera.

4.8 SE IDENTIFICO EL PERFIL DE RESISTENCIA A 12 ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO (KIRBY-BAUER). ⁽⁷⁾

Preparación del inóculo. (Ver anexo N° 13).

- Se tomaron de 1 o 2 colonias aisladas del crecimiento en TSA de cada aislado confirmado de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* o *Salmonella spp.* y se transfirieron a un tubo con solución salina al 0.85%.
- Se homogenizó la suspensión hasta una turbidez similar al estándar 0.5 McFarland.
- Esto resulta en una suspensión que contiene aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UCF/mL del microorganismo.

Inoculación de las placas.

- Pasado 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, se sumergió un hisopo, el cual fue rotado varias veces y presionado firmemente contra la pared interna del tubo sobre el nivel de líquido para remover el exceso de líquido.
- Se inoculó la superficie de una placa de agar Mueller–Hinton, estriando sobre toda la superficie en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Aplicación de los discos a las placas inoculadas. ⁽⁷⁾

- Se colocaron seis discos de antibióticos individuales (Amoxicilina+ ac. Clavulánico, Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Kanamicina, Gentamicina

Norfloxacina, Sulfametoxazole/trimetopirn, Penicilina G, Tetraciclina, Eritromicina, Cloranfenicol, Neomicina) en cada placa (2 placas por muestra) sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente sobre cada disco, como se muestra en la figura N° 2.

- Las placas fueron invertidas y se incubaron a 35°C en un periodo de 16 a 24 horas.
- Se examinó cada placa y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

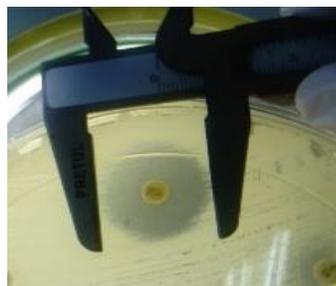


Figura N°2. Colocación de discos de antibióticos y lectura de halos.

Cuadro N° 10. Antibióticos que se utilizaron en el antibiograma. ^{(10), (11), (22)}

N°	Antibiótico	Concentración	Símbolo
1	Amoxicilina+ ac. clavulánico	30/10 µg	AMC 30
2	Ácido Nalidíxico	30 µg	AN 10
3	Ampicilina	10 µg	AMP 10
4	Kanamicina	20 µg	K 30
5	Gentamicina	10 µg	GEM 10
6	Norfloxacina	10 µg	NX 10
7	Sulfametoxazole/trimetroprim	23.75/1.15 µg	SXT
8	Penicilina G	10 UI	P 10
9	Tetraciclina	30 ug	Te 30
10	Eritromicina	15 µg	E 15
11	Cloranfenicol	30 µg	C30
12	Neomicina	30 µg	N 30

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. ⁽¹¹⁾

- Se examinó cada placa y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.
- La interpretación de los halos obtenidos fue basada en Performance Standards for Antimicrobial Disk test, CLSI (antes NCCLS). Los rangos de interpretación son los siguientes: resistente (RR), intermedio (IR) y sensible (SS), que son independientes para cada microorganismo, (Ver anexo N° 14).

4.9 COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA RESISTENCIA MICROBIANA DE LA CEPA CONTROL Y CEPAS AISLADAS DE LAS MUESTRAS.

Para la obtención de los resultados de la cepa control, se realizaron los mismos procedimientos de preparación del inóculo: a partir del crecimiento en TSA de las cepas control (ATCC), inoculación de las placas, aplicación de discos e interpretación de resultados utilizados para las cepas aisladas a partir de las muestras y descritos en los numerales 4.12.1 al 4.12.4.

Todas las cepas control se testificaron frente a los 12 antibióticos al igual que las muestras, exceptuando *Listeria monocytogenes* que adicionalmente se evaluó su sensibilidad frente a Rifampicina.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 DESCRIPCIÓN DE CONDICIONES DE BUENAS PRÁCTICAS HIGIÉNICAS (BPH) DE LOS SUPERMERCADOS EN ESTUDIO ^{(9), (30)}

Se realizó la visita a cinco salas de ventas de supermercados seleccionados para observar las condiciones higiénicas de los manipuladores, las áreas de despacho y las condiciones de cámaras refrigerantes en las que se encuentran expuestas las carnes magras y adobadas para ser comercializadas al detalle. Por cada muestreo se verificaron los aspectos que se presentan en las listas de chequeos, esta se realizó por cada sucursal, haciendo un total de diez guías aplicadas (ver anexo N° 1)

En el cuadro N° 11 se detallan los porcentajes de cumplimiento de las BPH, evaluadas por observación.

Ubicación y alrededores.

Cuadro N° 11. Porcentaje de ubicación y alrededores de las salas de venta de los supermercados.

Criterios	Si	NO
Zona sanitariamente adecuada	100%	0%
Alrededores limpios y libres de focos de infección	100%	0%

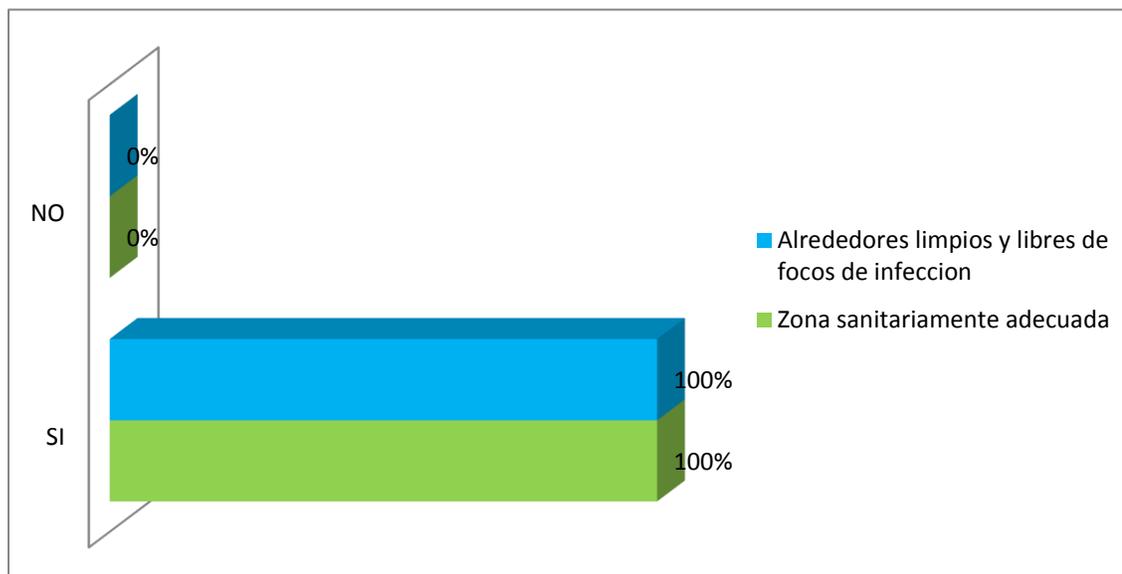


Figura N° 3 Adecuación de ubicación y alrededores de las salas de venta de los supermercados.

Las salas de despacho de carnes adobadas de los supermercados seleccionados en un 100% son sanitariamente adecuadas, se encuentran limpias y libres de focos de infección, basado en la normativa que especifica que los establecimientos deben estar situados en zonas no expuestas a cualquier contaminación física, química, biológica y actividades que constituyan una amenaza grave de contaminación de los alimentos.

Vestuario del personal.

Cuadro N° 12. Porcentaje de personas que utilizan la vestimenta adecuada para el despacho de carnes adobadas.

Criterios	Si	No	Criterios	Si	No
Uso correcto de uniforme	30%	70%	Vestuario limpio (color claro)	30%	70%
Gorro o redecillas	100%	0%	Botas de Hule	100%	0%
Guantes descartables	0%	100%	Uso de mascarilla	0%	100%
Vestuario de uso exclusivo	0%	100%			

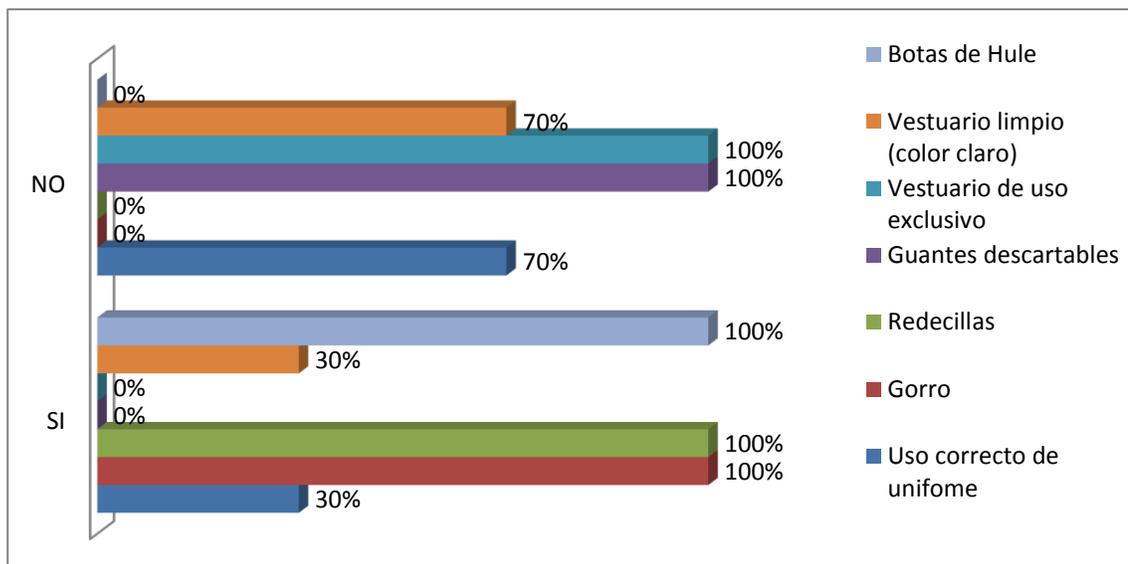


Figura N° 4. Vestimenta adecuada para el despacho de carnes adobadas.

Del personal que se encuentra en el área de despacho solo el 30% usa correctamente el uniforme (gorro o redecilla, guantes descartables, mascarilla, mandil, bota de hule), y el 70% no hace uso de mascarillas y guantes descartables.

A pesar de que el personal usa uniforme, en un 30% este no es de uso exclusivo del área de despacho, por lo que no cumplen la normativa RTCA 67.01.33:06., la cual especifica que todo empleado debe cumplir con prácticas higiénicas.

Higiene personal.

Cuadro N° 13. Porcentaje de personas que cumplen con aseo personal.

Criterios	Si	No	Criterios	Si	No
Manos limpias	100%	0%	Uñas sin esmalte	100%	0%
Uñas recortadas	100%	0%	No joyas (anillos, pulseras, reloj, etc.)	0%	100%

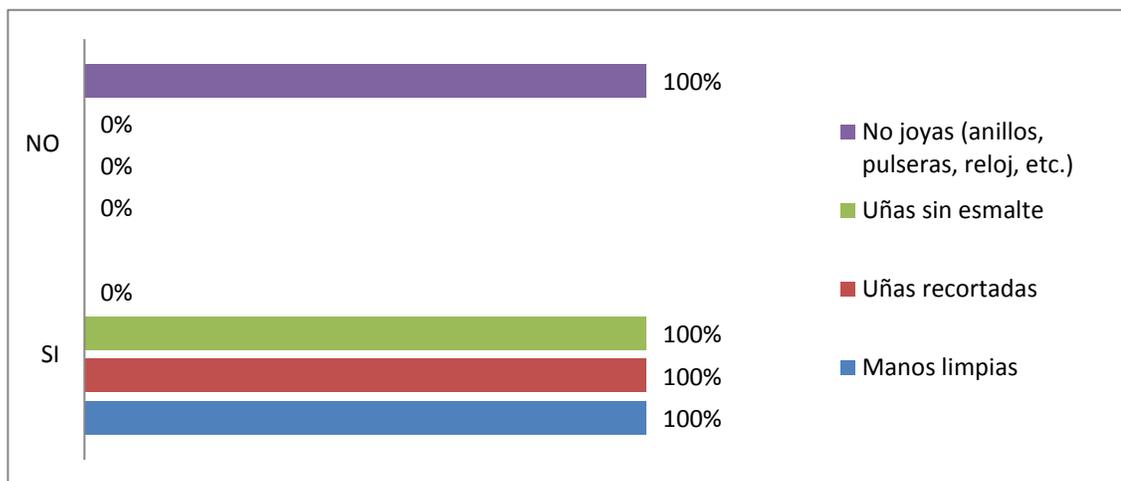


Figura N° 5. Personas que cumplen con aseo personal para el despacho de carnes adobadas.

En un 100% el personal cumple con normas mínimas de higiene, entre ellas: mantiene manos limpias, uñas recortadas y sin esmalte, además de no hacer uso de joyas. El reglamento RTCA 67.01.33:06, específica que en toda industria alimentaria los empleados deben velar por un manejo adecuado de los productos alimenticios y mantener un buen aseo personal, de forma tal que garantice la producción de alimentos inocuos.

Cámaras refrigerantes.

Cuadro N° 14. Porcentaje de condiciones de los equipos y utensilios en sala de despacho de carnes adobadas.

Criterios	Si	No	Criterios	Si	No
Buen estado	100%	0%	Debidamente protegido del polvo	100%	0%
Debidamente rotulados	100%	0%	Control de temperatura visible	100%	0%
Adecuada iluminación	0%	100%	Utensilios para cada compartimiento de carne	0%	100%

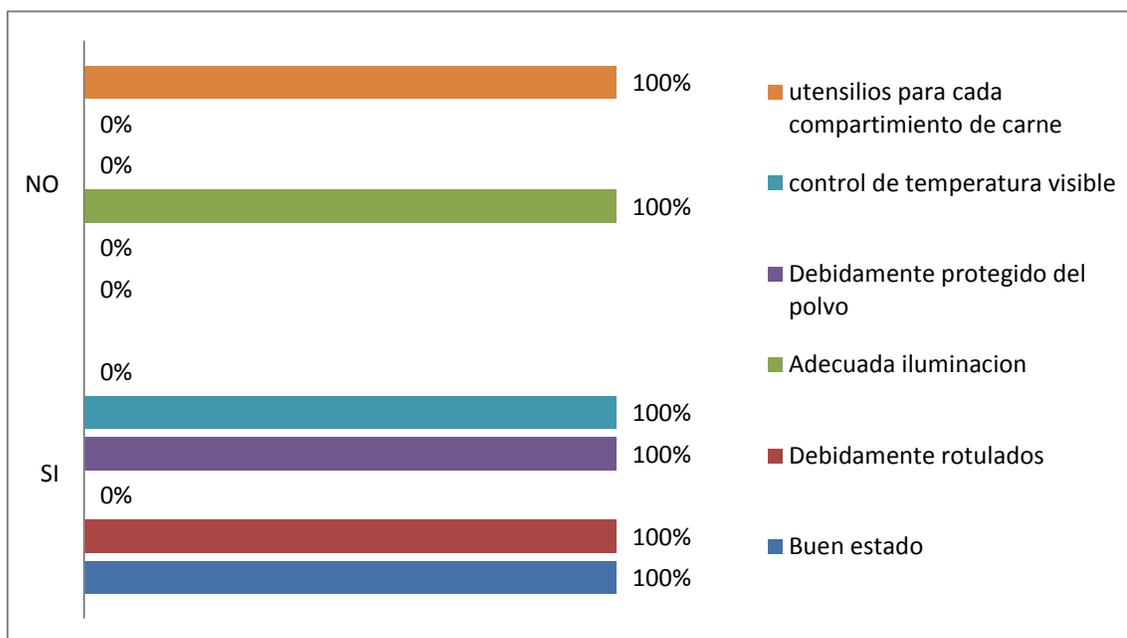


Figura N° 6. Condiciones de los equipos y utensilios en sala de despacho de carnes adobadas.

En un 100% las cámaras refrigerantes se observaron en buen estado, debidamente rotuladas, no así con una adecuada iluminación (0%), además de ello no se observó que cuentan con utensilios para cada compartimiento de carne adobada. La normativa específica que el equipo y utensilios deben estar diseñados y contruidos de tal forma que se evite la contaminación del alimento y se facilite su limpieza.

Se observó que las vitrinas de dos salas de venta (70%) se mantiene cerradas cumpliendo con las Buenas Prácticas Higiénicas (BPH), y un 30% no cumple ya que ha implementado como estrategia comercial que el cliente pueda hacer su propio despacho de carne adobada, dicha acción expone el producto a contaminación. Además de ello, en cada una de las cámaras refrigerantes se observó que poseen un termómetro no así un rótulo que especifique la temperatura a la cual permanece, dicha acción reduce las probabilidades de

controlar la calidad de las carnes, propiciando contaminación cruzada de aquellas carnes que inician su estado de descomposición.

Los resultados obtenidos del chequeo de BPH mostraron que los factores como: el vestuario correcto del personal en las áreas de despacho (30%), la higiene personal (100%), cámaras refrigerantes debidamente protegidas del polvo (70%) son problemas en la vigilancia de las BPH, ya que los resultados de incumplimiento han sido mayores que en otras investigaciones. ⁽³²⁾

5.2 IDENTIFICACION Y AISLAMIENTO de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. (Ver anexo N° 16).

De los dos muestreos realizados en fechas diferentes: en el primer muestreo se recolectaron 10 muestras y en el segundo 12 muestras, haciendo un total de 22 muestras, según el detalle del cuadro N° 16.

Cuadro N° 15. Número de muestras obtenida por tipo de adobo.

N° de Muestreo	Tipo de carne adobada				Como Patrón
	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra
1	3	3	0	1	3
2	3	3	3	0	3
Total	6	6	3	1	6

Cuadro N° 16. Códigos de muestra por tipo de adobo

Tipo de adobo	Código	Tipo de adobo	Código
Criollo	CR01	Suavizado económico	SE03
Churrasco	CH02	Jalapeño	JP04
Carne Magra	MG05		

Cuadro N° 17. Codificación de muestras por tipo de adobo.

Muestreo 1		Muestreo 2	
Código de Muestra		Código de Muestra	
050701CR01	050707CR01	180701CR01	180707SE04
050702CH02	050708CH02	180702CH02	180708MG05
050703MG05	050709JP04	180703SE03	180709CR01
050704CR01	050710MG05	180704MG05	180710CH02
050705CH02		180705CR01	180711SE05
050706MG05		180706CH02	180712MG05

Cada una de las muestras fueron codificadas según tipo de adobo, día, mes y correlativo de recolección.

Ejemplo:

Código de muestra: 050701CR01

Fecha de recolección (día/mes): 0507

Correlativo de recolección: 01

Tipo de adobo: CR01

5.2.1 DETERMINACIÓN DE pH EN CARNES ADOBADAS.

Cuadro N° 18. Resultado de pH de muestras de carne de res adobada.

Muestreo 1				Muestreo 2			
Código de Muestra	pH						
050701CR01	4.80	050707CR01	4.94	180701CR01	5.14	180707SE04	5.94
050702CH02	5.56	050708CH02	5.42	180702CH02	6.41	180708MG05	5.69
050703MG05	5.63	050709JP04	5.20	180703SE03	6.11	180709CR01	4.85
050704CR01	4.95	050710MG05	5.90	180704MG05	5.69	180710CH02	5.43
050705CH02	5.51			180705CR01	5.47	180711SE03	5.74
050706MG05	5.63			180706CH02	5.97	180712MG05	5.53

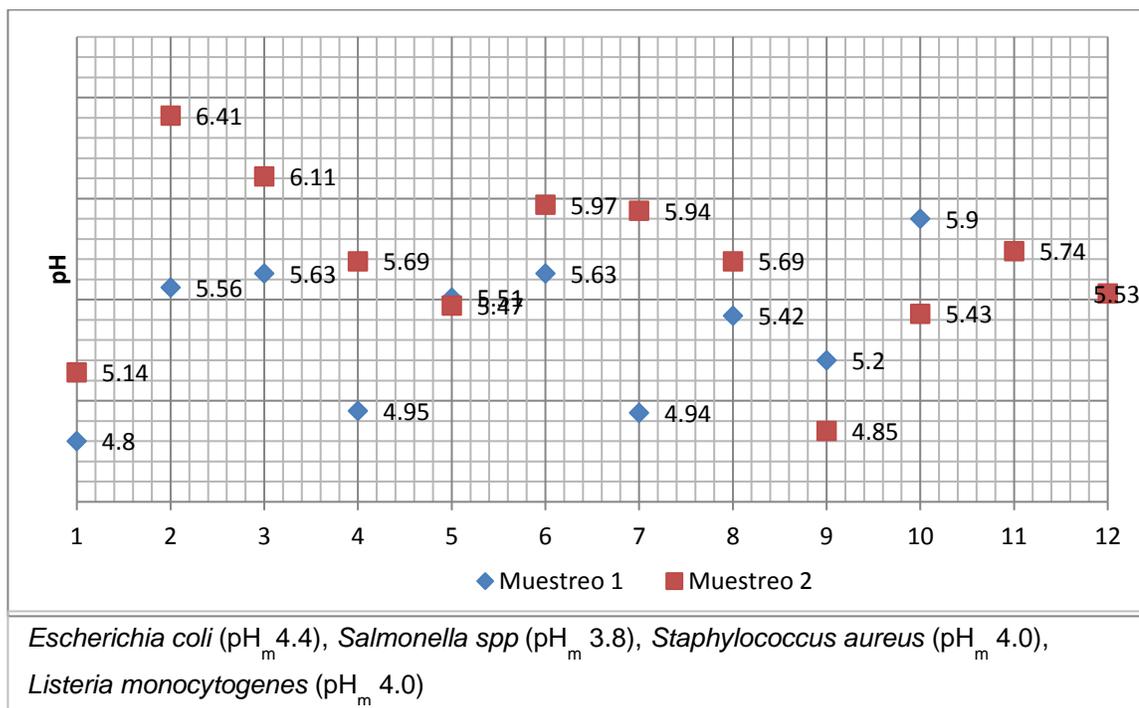


Figura N° 7. pH de muestras de carne de res adobada y magra.

Los resultados de pH de cada una de las muestras analizadas fueron comparados con el pH óptimo de carnes crudas que debe de ser entre 5.4 a 5.8, (28) y los pH de cada uno de los microorganismos.

Se identificó que el pH resultante de cada una de las muestras son un medio propicio para el crecimiento de *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Un 80% de las muestras presentaron un medio propicio para el crecimiento de *Salmonella spp*, el 22.74% para *Staphylococcus aureus* y un 59% de *Escherichia coli*.

5.2.2 *Escherichia coli*

Cuadro N°19. Número de muestras con presencia de *Escherichia coli*.

Resultado	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	Total, de muestras
	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx
> 10 ² UFC/g de <i>E. coli</i>	4	1	2	1	5	13
< 10 ² UFC/g de <i>E. coli</i>	2	5	1	0	1	9
Total	6	6	3	1	6	22

E. coli: *Escherichia coli*

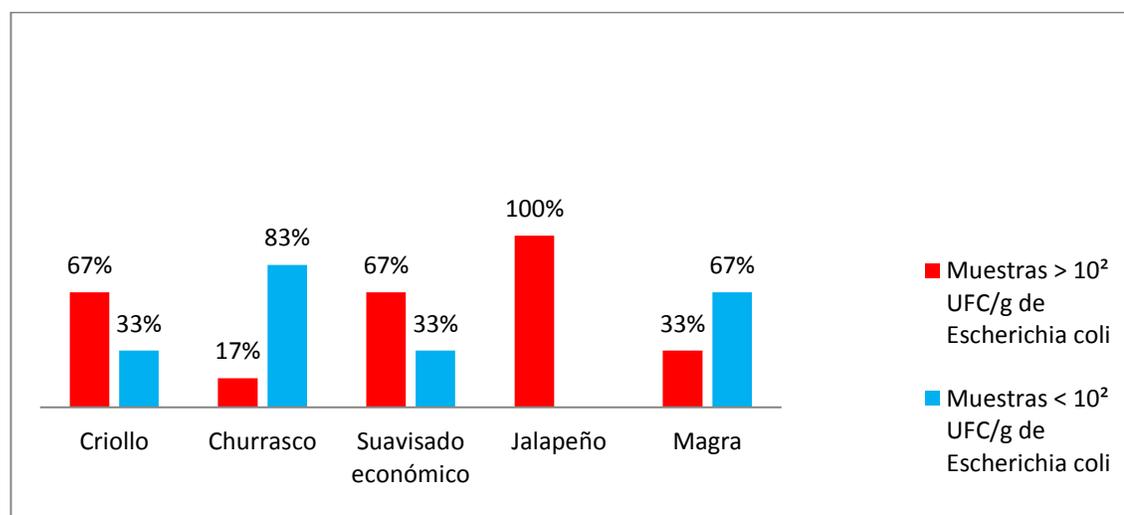


Figura N° 8. *Escherichia coli* en muestras de carne de res adobadas.

Para las muestras de carne de res adobadas con presencia *Escherichia coli*, el 67% (4) de los aislados corresponden al adobo tipo criollo, 17% (1) a churrasco; 67% (2) a suavizado económico; 100% (1) a jalapeño y un 83% (5) corresponde a carne magra,

Según la Norma RTCA 67.04.50:08 para *Escherichia coli*, el recuento máximo es de 100 UFC/g, por lo que 13 de muestras no cumplen con la normativa.

La presencia de *Escherichia coli* en los alimentos indica, generalmente, una contaminación directa o indirecta de origen fecal, ya que tiene como hábitat natural el tracto intestinal del hombre y de animales.

5.2.3 *Staphylococcus aureus* (8), (23), (25).

Cuadro N°20 Porcentaje de muestras con presencia de *Staphylococcus aureus*.

Resultado	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	Total, de muestras
	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx
> 10 ² UFC/g de <i>S. aureus</i>	1	1	1	0	2	5
< 10 ² UFC/g de <i>S. aureus</i>	5	5	2	1	4	17
Total	6	6	3	1	6	22

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

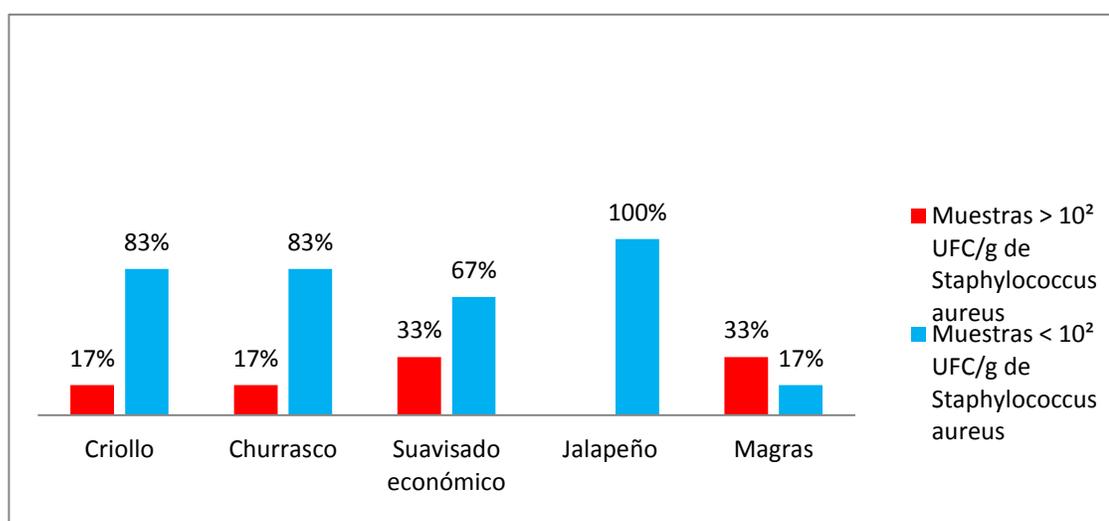


Figura N° 9. *Staphylococcus aureus* en muestras de carne de res adobadas.

De las 5 muestras que presentaron contaminación por *Staphylococcus aureus*, el 17% (1) corresponde al adobo tipo criollo, el 17% (1) a tipo churrasco, un 33% (1) a suavizado económico y un 33 % (2) corresponde a carnes magras. La norma RTCA 67.04.50:08 criterios microbiológicos para inocuidad de alimentos específica para este tipo de alimentos que deben reportar $< 10^2$ UFC/g de *Staphylococcus aureus*.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas indica la contaminación con bacterias muy resistentes en el medio ambiente ampliamente distribuido en la naturaleza (aire, agua, residuos, maquinaria, superficies de la industria alimentaria), pero su principal reservorio son los humanos y animales, encontrándose en la piel, cabello, fosas nasales, así como en la garganta.

Staphylococcus aureus crece en un pH que varía entre 4 a 7, las muestras que reportaron $> 10^2$ UFC/g presentan pH en rangos de 5.47 y de 5.94.

Los resultados que indican el crecimiento de colonias $> 10^2$ UFC/g de *Staphylococcus aureus* (33%) en carnes magras es mayor a los reportados en Colombia (18%) en muestras de carne molida, comparado con la investigación actual el porcentaje es menor en dicho país. ⁽²⁴⁾

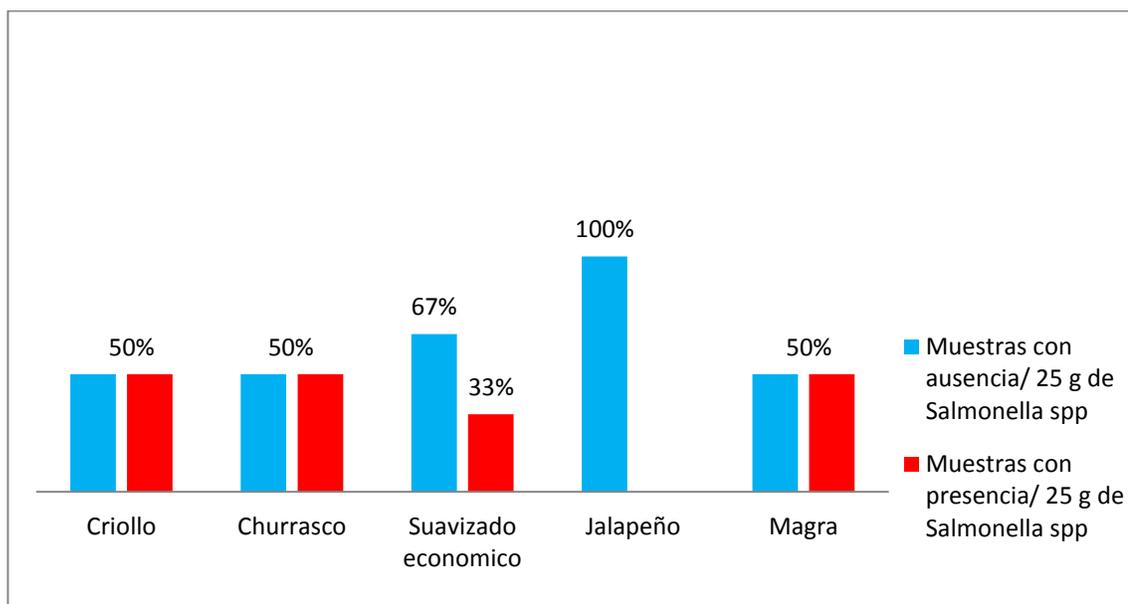
5.2.4 *Salmonella spp.* ^{(21), (33)}.

Cuadro N°21. Porcentaje de muestras con presencia de *Salmonella spp.*

Resultado	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	Total, de muestras
	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx
ausencia/ 25 g de <i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	3	3	2	1	3	12

Cuadro N°21 Continuación

Resultado	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	Total, de muestras
	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx
presencia/ 25 g de <i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	3	3	1	0	3	10
Total	6	6	3	1	6	22

Figura N° 10. Porcentaje de muestras con presencia de *Salmonella* spp.

En el 54.54% de las muestras analizadas se aisló *Salmonella* spp., las que se encuentran fuera del rango determinado por Norma RTCA 67.04.50:08 criterios microbiológicos para inocuidad de alimentos, que especifica la ausencia para estos productos.

De las diez muestras que reportan presencia de *Salmonella* spp, el 50% (3) corresponden a los adobos criollos, el 50% (3) a churrasco, un 33% (1) a suavizado económico y el 50% (3) a carnes magras. Dichas muestras están

contaminadas con un agente causal de infecciones alimentarias. Este microorganismo en procesos productivos es un indicador de falta de higiene e inadecuada manipulación de los alimentos, contaminación cruzada en los mataderos, en las fases de transformación de los alimentos y en la preparación de estos. ⁽¹¹⁾

Salmonella spp., crece en un pH que varía entre 4.0 – 9.0. Las muestras que reportan presencia poseen pH en rangos de 4.94 y de 5.97, el 80% de las muestras presentan un pH mayor de 5.5, generando un medio propicio para el crecimiento de dicho microorganismo.

La presencia de *Salmonella spp* en las muestras analizadas es de un 54.54%, en comparación con otras investigaciones relacionadas a la calidad microbiológica de la carne de res y la determinación de dicho microorganismo, es mayor en países como Estados Unidos, Canadá y Turquía, que reportan (4.2%), (1.3%) y (3.5%), respectivamente, para carne molida. Por el contrario, el valor reportado es mayor en otra investigación en Senegal con un 87.4%. ⁽²⁷⁾

5.2.5 *Listeria monocytogenes* ^{(8), (19), (21),}

Cuadro N°22. Porcentaje de muestras con ausencia de *Listeria monocytogenes*.

Resultado	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	Total, de muestras
	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx	N° de Mx
ausencia/ 25 g de <i>L. mono</i>	6	6	3	1	6	22
presencia/ 25 g de <i>L. mono</i>	0	0	0	0	0	0
Total	6	6	3	1	6	22

L.mono: *Listeria monocytogenes*

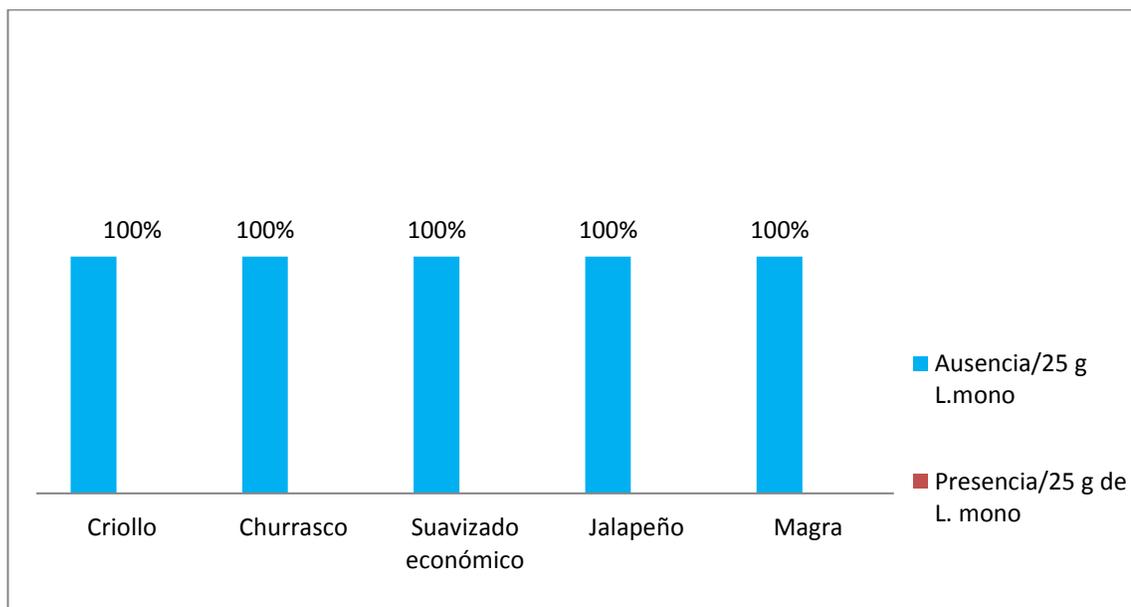


Figura N° 11. *Listeria monocytogenes* en carnes adobadas analizadas.

En el 100% de las muestras analizadas no se encontró *Listeria monocytogenes*, según Criterios microbiológicos para productos cárnicos emitidos por Secretaría de Agricultura y Ganadería acuerdo N° 078 00, Tegucigalpa, Honduras. ⁽³⁰⁾

La ausencia de este microorganismo en muestras analizadas es un buen indicador de que planta, equipos y utensilios cuentan con procedimientos de limpieza eficientes, ya que es una bacteria Gram positiva que crece a baja temperatura y sobrevive a periodos de almacenamiento en refrigeración, además tiene la capacidad de crecer a pH entre 5.0 y 9.5, sobrevive a altas concentraciones de sal por largos periodos de tiempo y es relativamente resistente a la deshidratación.

Los resultados de ausencia de *Listeria monocytogenes* en carnes magras y adobadas son favorables en comparación con los reportados en carne molida (3.3%, 9.5%, 12.1% y 16.4 %), en países como Estados Unidos, Italia, Japón y Marruecos, respectivamente; e Irlanda (29%) y México (27.78%). ⁽²¹⁾

Cuadro N°23. Cepas aisladas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, y *Listeria monocytogenes* por muestras. (Ver anexo N°16).

Cepas aisladas	Número de aislamientos por tipo de adobo					Total
	Criollo	Churrasco	Suavizado económico	Jalapeño	Magra	
<i>Escherichia coli</i>	4	1	2	1	5	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	1	0	2	5
<i>Salmonella spp</i>	3	3	1	0	3	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0
Total	8	5	4	1	10	28

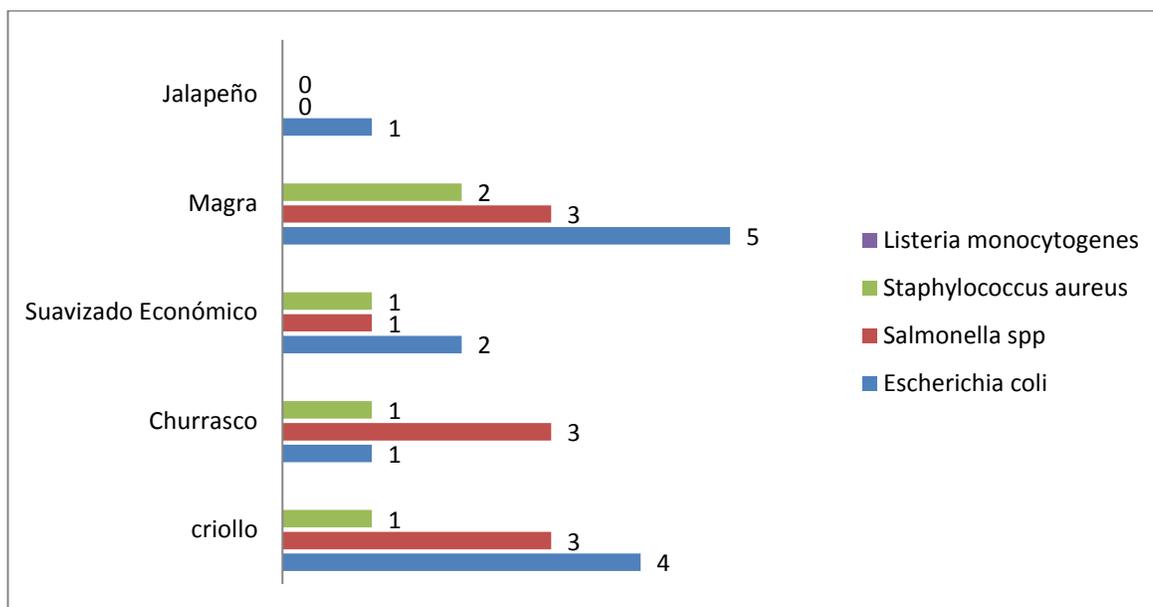


Figura N° 12. número de cepas aisladas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella spp*. presentes en muestra.

De las muestras analizadas de carnes adobadas se aislaron tres microorganismos causantes de ETA, siendo los géneros: *Escherichia coli* (13), *Salmonella spp* (10) y *Staphylococcus aureus* (5).

La presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* en muestras de carne adobadas y magras son indicadores de una deficiente higiene personal, un manejo inadecuado de los productos de origen animal (refrigeración de alimentos), además de una contaminación directa de heces fecales en algún lugar del proceso.

Por el tipo de microorganismos y la cantidad presentes en carnes magras y adobadas de res, es de mencionar, que las condiciones sanitarias del medioambiente del cual provienen, las propiedades y la calidad microbiológica de algunos ingredientes adicionales, el cuidado y manejo del producto, además, de las condiciones posteriores de almacenamiento, manejo y distribución de este son condicionantes para la alteración de los productos cárnicos.

Las muestras analizadas, presentan un adobo que es una mezcla de especias y condimentos que tienen funcionalidades en el sabor y textura del producto cocinado, siendo los aceites esenciales responsables de la capacidad de las especias para condimentar, saborizar y aromatizar; además de tener poder bactericida que operan en los sistemas óxidos reductores de las células bacterianas. Asimismo, ejercen acciones específicas sobre el sistema digestivo.

Tomando en cuenta la composición de los adobos se puede considerar que este tipo de conservación de alimentos confiere a las carnes una acción antimicrobiana, siendo las que presentaron un número mayor de muestras contaminadas: 2 con *Staphylococcus aureus*, 3 con *Salmonella spp* y 5 con *Escherichia coli*.

5.3 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS AISLADAS DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp*. EN MUESTRAS DE CARNES MAGRAS Y ADOBADAS TIPO CRIOLLO, CHURRASCO Y SUAVIZADO. ^{(8), (11) (30)}

Se evaluaron los perfiles de resistencia a 3 microorganismos aislados frente a 12 antimicrobianos de uso más frecuente pertenecientes a la familia de las penicilinas, quinolonas, fluoroquinolona, tetraciclinas, sulfonamidas, aminoglucósidos y macrólidos; siendo los antimicrobianos evaluados: Amoxicilina con ácido clavulánico (AMC 30), ácido nalidíxico (AN 10), ampicilina (AMP 10), kanamicina (K30), gentamicina (GEM 10), norfloxacin (NX10), sulfametoxazol - trimetoprim (SXT), penicilina G (P10), tetraciclina (TE 30), eritromicina (E15), cloranfenicol (C30), neomicina (N 30). Los aislamientos fueron categorizados como sensibles (SS), resistencia intermedia (RI) y resistentes (RR) de acuerdo con los parámetros establecidos por la NCCLS (2002).

Los microorganismos que presentaron resistencia a dos o más familias de antibióticos se clasificaron como multirresistentes.

5.3.1 PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS AISLADAS DE *Escherichia coli*

El resultado del antibiograma realizado a las cepas aisladas de *Escherichia coli* (13) demostró que el 100% presenta resistencia a penicilina (P10), el 77% a eritromicina (E15), el 46% a Amoxicilina + ácido clavulánico, un 23% norfloxacin (NX 10) y un 15% a ampicilina (AMP 10), es decir, que con estos antibióticos que presentan una resistencia mayor de 50% es probable que la infección causada por los microorganismos son capaces de resistir a los antibióticos prescritos independientemente la dosis suministrada. (ver Figura N°13).

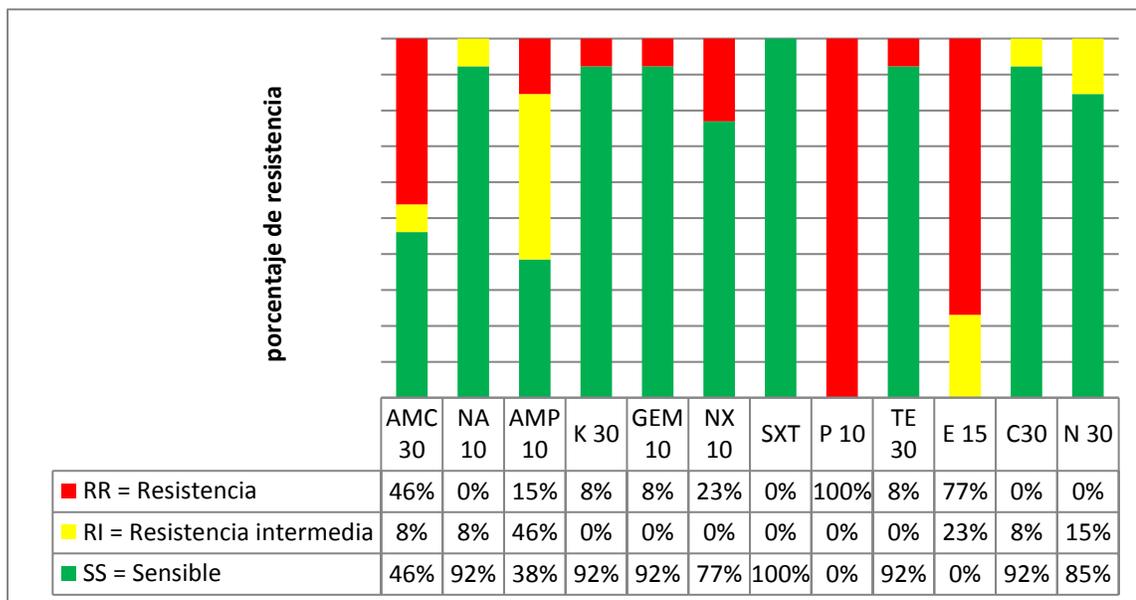


Figura N° 13. Sensibilidad (color verde), resistencia intermedia (color amarillo) y resistencia (color rojo) de cepas aisladas *Escherichia coli* frente a doce antibióticos.

Las cepas de *Escherichia coli* analizadas con los antibióticos establecidos presentaron en un 100% sensibilidad (SS) a Sulfametoxazole/ Trimetoprim, en un 92% a Ácido Nalidíxico, Kanamicina, Gentamicina, tetraciclina y cloranfenicol, en un 85% a Neomicina, un 46% amoxicilina+ Ácido clavulánico y un 38% ampicilina.

Es notable que en un 46% la cepa de *Escherichia coli* sea de resistencia intermedia frente a ampicilina, 23% Eritromicina, 15% Neomicina y 8% a amoxicilina + Ácido clavulánico, Ácido nalidíxico y cloranfenicol.

Los porcentajes de resistencia fueron mayores en cepas aisladas de carnes magras (42%), adobo tipo criollo (25%), suavizado económico (17%), jalapeño y criollo en un (8%), valores que fueron estadísticamente significativos para penicilina, ampicilina, eritromicina, amoxicilina + Ácido clavulánico.

Como resultado de esta investigación la cepa control de *Escherichia coli* presentó resistencia múltiple a 4 antibióticos (Amoxicilina + Ácido clavulánico, Kanamicina,

Gentamicina, penicilina), sin embargo, a pesar de que la cepa control es resistente, dos antibióticos presentan 100% de sensibilidad frente a Sulfametoxazole/Trimetoprim.

5.3.2 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS AISLADAS *Staphylococcus aureus*

En cuanto al análisis de susceptibilidad antimicrobiana registrada en esta investigación para cepas de *Staphylococcus aureus* se obtuvo un patrón de resistencia en muestras analizadas de 60% a Ácido Nalidíxico (AN 10), 60% a penicilina (P 10), 40% a Tetraciclina (TE 30) y un 20% a Amoxicilina + ácido Clavulánico (AMC 30), Kanamicina (K 30), Cloranfenicol (C 30) y Gentamicina (GEM 10), respectivamente. (Figura N° 14)

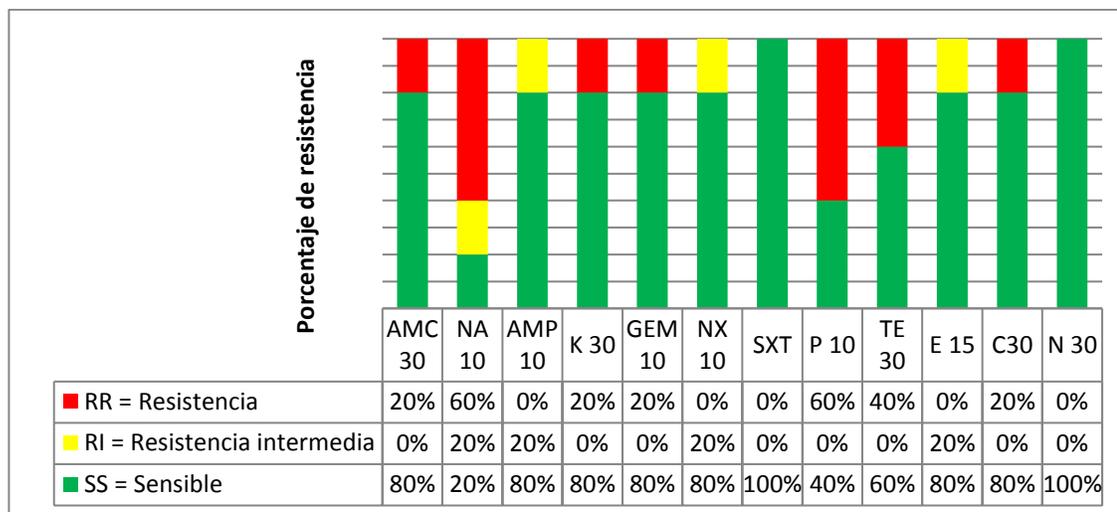


Figura N° 14. Sensibilidad (color verde), resistencia intermedia (color amarillo) y resistencia (color rojo) de cepas aisladas *Staphylococcus aureus*, frente a doce antibióticos

El comportamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* analizadas con los antibióticos establecidos presentaron una respuesta similar frente a: Sulfametoxazole - Trimetroprim y Neomicina, lo que nos indica que estos antibióticos actúan inhibiendo en un 100% a cepas de *Staphylococcus aureus* aislados.

Las cepas aisladas presentan resistencia en un 60% a Ácido nalidíxico y penicilina, en un 40% a la Tetraciclina, un 20% a la Amoxicilina + ácido clavulánico, Kanamicina, Gentamicina, y cloranfenicol; es decir que con estos antibióticos es probable que la infección causada por los microorganismos no responda efectivamente a los antibióticos prescritos independientemente la dosis suministrada, ya que la tendencia de cada uno va en crecimiento a la resistencia.

Las cepas aisladas presentaron resistencia múltiple ya que mostró resistencia para al menos 7 antibióticos (Amoxicilina + Ácido clavulánico, Ácido nalidíxico, Kanamicina, Gentamicina, penicilina, tetraciclina, cloranfenicol).

Los porcentajes de resistencia fueron mayores en cepas aisladas de carnes magras (50%), adobo tipo criollo (25%), churrasco (25%), valores que fueron estadísticamente significativos para Ácido Nalidíxico, penicilina, tetraciclina y eritromicina.

5.3.3 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS AISLADAS *Salmonella spp*

El resultado del antibiograma realizado a las cepas aisladas de *Salmonella spp* (10) demostró que un 100% presenta resistencia a la penicilina (P10), en un 90% a la Eritromicina (E15), un 60% a la tetraciclina (TE 30) y un 50% a la amoxicilina + Ácido clavulánico (AMC30); es decir que es probable que la infección causada

por los microorganismos es capaz de resistir estos antibióticos prescritos, independientemente de la dosis suministrada.

Es notable que en un 50% la cepa de *Salmonella spp.* sea de resistencia intermedia frente a amoxicilina + ácido clavulánico. (Figura N°15).

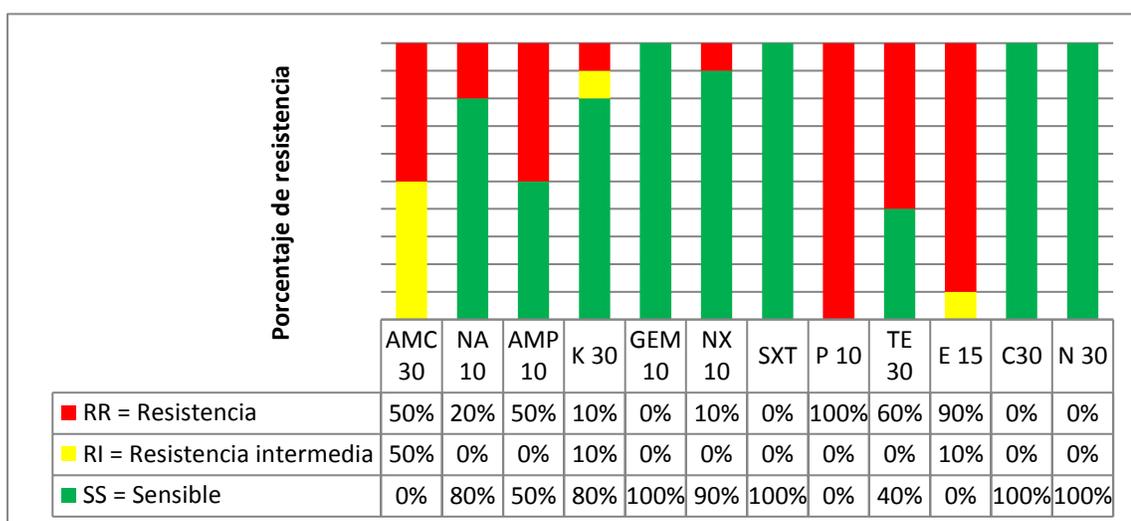


Figura N° 15. Sensibilidad (color verde), resistencia intermedia (color amarillo) y resistencia (color rojo) de cepas aisladas *Salmonella spp.* frente a doce antibióticos

En cuanto al análisis de susceptibilidad antimicrobiana registrada en esta investigación, se obtuvo un patrón de resistencia a antibióticos en cepas aisladas en un 50% a Amoxicilina + ácido Clavulánico (AMC 30), 50% a ampicilina (AMP 10), 60% a tetraciclina (TE 30), 90% a Eritromicina (E 15), mientras que un 100% a la penicilina (P 10).

Las cepas aisladas presentaron resistencia múltiple para al menos 8 antibióticos (Amoxicilina + Acido Clavulánico, Acido nalidíxico, ampicilina, Kanamicina, Norfloxacin, penicilina, tetraciclina, Eritromicina).

En cuanto a la cepa control presentó resistencia múltiple para al menos 2 antibióticos (Penicilina y Eritromicina).

Los porcentajes de resistencia fueron mayores en cepas aisladas de carnes magras (30%), adobo tipo criollo (30%), churrasco (30%) y suavizado económico (10%), para Amoxicilina + Ácido clavulánico, penicilina, ampicilina y eritromicina.

5.4 RESULTADO DE MULTIRRESISTENCIA MICROBIANA ⁽²⁾ ⁽⁶⁾ ⁽¹⁰⁾

5.4.1 *Escherichia coli*

De las 13 cepas aisladas de *Escherichia coli* se identificaron que 12 de ellas presentaron multirresistencia a dos o más familias de antibióticos evaluados, de los cuales las combinaciones más frecuentes fueron para penicilinas y macrólidos; siendo la penicilina, ampicilina y eritromicina los antibióticos más resistentes.

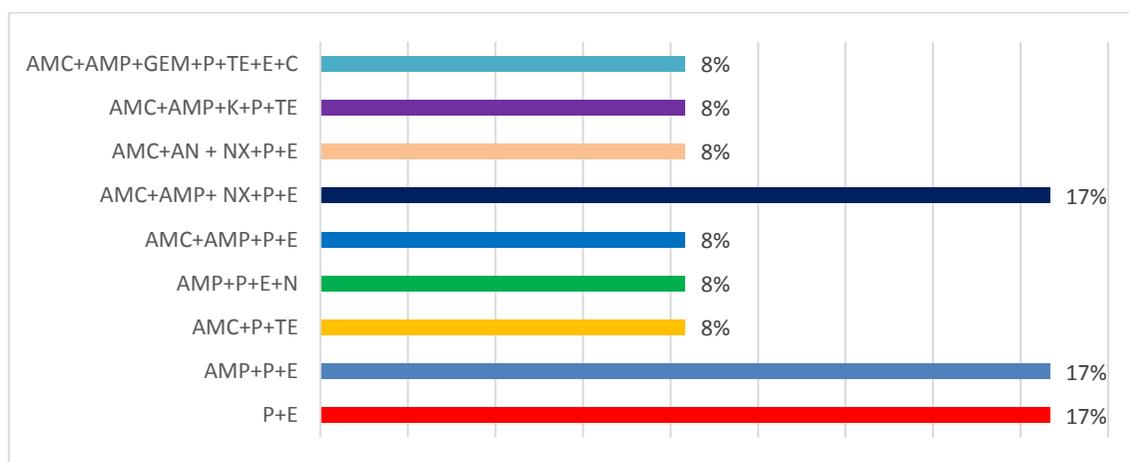


Figura N° 16. Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de *Escherichia coli*.

Los resultados obtenidos en esta investigación son mayores a los encontrados en Colombia ⁽¹⁴⁾, que reportaron un 82% de resistencia de las cepas aisladas de *Escherichia coli* para la Ampicilina, un 3% a gentamicina y menor para

trimetoprim – sulfa que reporta un 54%.⁽¹³⁾ Así también, en El Salvador el Ministerio de Salud en el año 2015 reportó que la ampicilina es uno de los antibióticos con mayor resistencia en el tratamiento de *Escherichia coli* (84%), Trimetoprim/Sulfametoxazol en un 60%.⁽³²⁾

Los mecanismos de resistencia que se pueden atribuir a la familia Enterobacteriaceae, específicamente a bacterias *Escherichia coli*, son la producción de enzimas betalactamasas y las BLEES, que hidrolizan los antibióticos betalactámicos incluyendo cefalosporinas de tercera y cuarta generación; los Aminoglucósidos y Macrólidos.

5.4.2 *Staphylococcus aureus*

De las cinco cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* se identificaron que cuatro presentaron multirresistencia a dos o más familias de antibióticos evaluados, de los cuales; siendo la penicilina, Ácido Nalidíxico, tetraciclina y eritromicina los antibióticos más resistentes

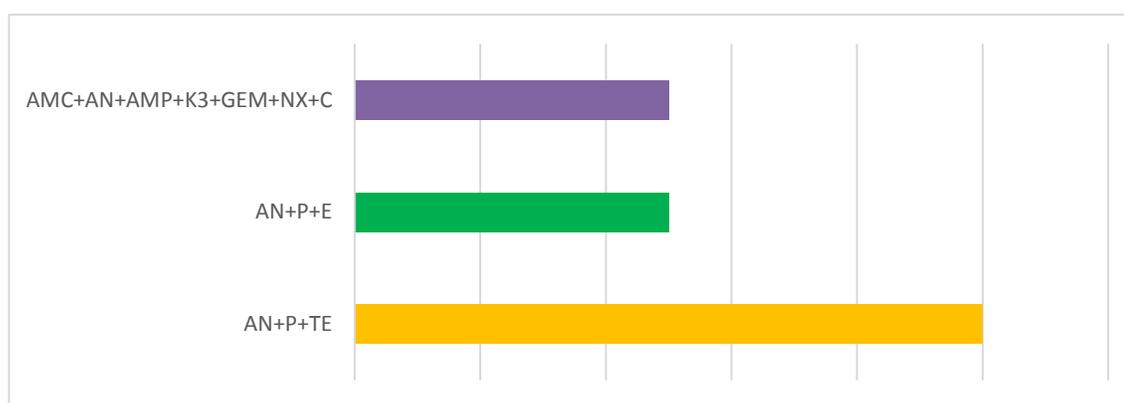


Figura N° 17. Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de *Staphylococcus aureus*.

Los resultados de *Staphylococcus aureus* de una investigación realizada por el Ministerio de Salud reportó que la penicilina representa a uno de los antibióticos con mayor resistencia en el tratamiento de dicho microorganismo (98.2%), en comparación con los resultados obtenidos en esta investigación las cepas aislada presentan un 60% de resistencia a la penicilina. ⁽³¹⁾

En cuanto al análisis de susceptibilidad antimicrobiana registrado en Lima, Perú, reportaron un patrón de resistencia en un 35% a gentamicina; sin embargo, los valores reportados en Colombia especifican resistencia entre el 12 y 56% a Penicilina, Eritromicina y Amoxicilina – clavulánico.

5.4.3 *Salmonella spp.*

El perfil de multirresistencia obtenido para las 10 bacterias aisladas del género de *Salmonella spp* indicó que 10 de ellas presentaron mayor multirresistencia a la combinación de las familias de las penicilinas, macrólidos, siendo los antibióticos más resistentes Amoxicilina+ac. Clavulánico, penicilina, eritromicina. (Figura 18).

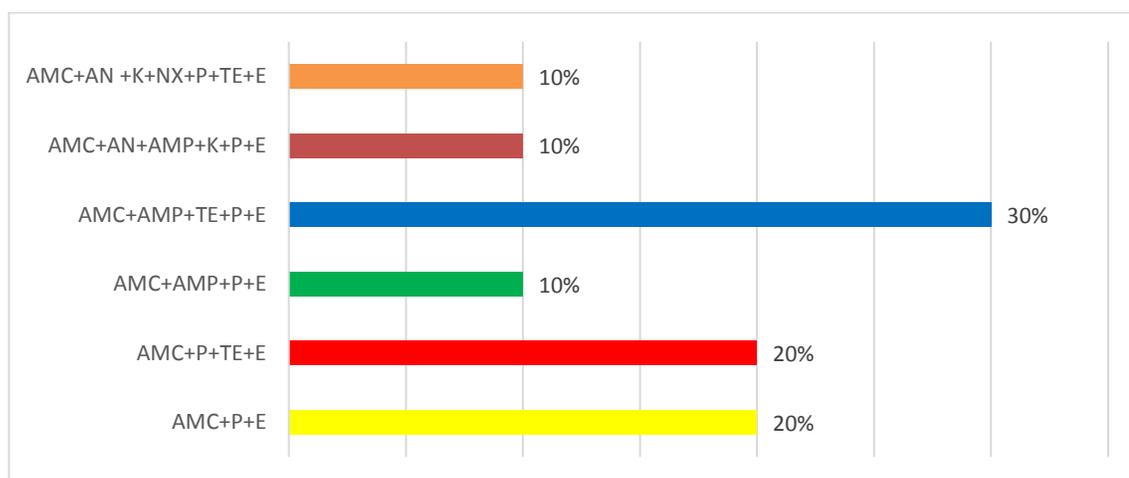


Figura N° 18. Perfil de multirresistencia de cepas aisladas de *Salmonella spp*

Los resultados de resistencia obtenidos de esta investigación son similares a los reportados en el año 2012 para *Salmonella spp.* 100% de resistencia a penicilina 10 µg, 100% sensible a Gentamicina 10 µg y Ciprofloxacina 5 µg, 45.45% presentó resistencia a tetraciclina 30 µg, 9.1% sensibilidad intermedia a tetraciclina 30 µg, 45.45% sensible a tetraciclina 30 µg, 9.1% resistente a cloranfenicol 30 µg, (9.1%)⁽³²⁾; por el contrario los valores reportados son menores que los presentados en otras investigaciones, en Etiopia con un 100% penicilina 10 µg y amoxicilina 20 µg, además de un 71.4% a tetraciclina 30 µg, 62.3% a cloranfenicol 30 µg, 7.1% Norfloxacin 10 µg y 3.6% a Gentamicina 30 µg. Además, en Cuba se encontró resistencia a ampicilina (19.0%) y un (12.7%) a tetraciclina.⁽²⁷⁾

5.5 NÚMERO DE ANTIBIÓTICOS A LOS QUE SON RESISTENTES LAS CEPAS AISLADAS DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Cuadro N°24. Número de antibióticos a los que son resistentes las cepas aisladas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Antibiótico	Símbolo	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>	Total
Amoxicilina+ac. Clavulánico	AMC 30	7	10	1	18
Ácido Nalidíxico	AN 10	1	2	4	7
Ampicilina	AMP 10	8	5	1	14
Kanamicina	K 30	1	2	1	4
Gentamicina	GEM 10	1	0	1	2
Norfloxacin	NX 10	3	1	1	5
Sulfametoxazole/trimetopirn	SXT	0	0	0	0
Penicilina G	P 10	12	10	3	25
Tetraciclina	Te 30	3	6	2	11
Eritromicina	E 15	10	10	1	21
Cloranfenicol	C30	1	0	1	2
Neomicina	N 30	1	0	0	1
Total		48	46	16	110

Con base a los resultados obtenidos y la similitud de antibióticos usados en la veterinaria para garantizar la salud y el bienestar de los animales es completamente necesario disponer de una diversidad de medicamentos.

Su utilización en animales productores de alimentos puede dejar residuos en los productos alimenticios obtenidos a partir de animales tratados indiscriminadamente.

Los antibióticos de uso veterinario se metabolizan por distintos mecanismos y persisten en diferentes tejidos hasta su correcta eliminación. Si no se garantiza los niveles técnicamente seguros de residuos de antibióticos en el ganado con fines de consumo es probable que se presente multirresistencia a diferentes antimicrobianos, tal es el caso de la presente investigación que las cepas aisladas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*, presentan multirresistencia a 8 de 12 antibióticos en estudio. ⁽¹⁾

Las cepas aisladas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* presentan el 100% de resistencia frente a la penicilina 10 µg, siendo este antibiótico un β-lactámico autorizado para uso en bovinos productores de carne.

El uso de antibióticos en los animales productores de alimentos genera residuos en carnes, leche y huevos que pueden producir efectos tóxicos directos. Los principales grupos de antibióticos usados con fines terapéuticos en animales productores de alimentos que pueden originar residuos son las penicilinas, cefalosporinas, quinolonas, macrólidos, florfenicol y compuestos relacionados, tetraciclinas, pleuromutilinas, lincosamidas, aminoglucósidos, inhibidores beta lactamasa (Ácido Clavulánico), polimixinas y sulfamidas. Los residuos de antibióticos en el alimento constituyen una variedad de riesgos para la salud humana. (Ver anexo N° 17), (Ver anexo N° 18), (ver anexo N° 19), (ver anexo N° 20)

La posible causa de la resistencia que muestran las cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* se debe al uso indiscriminado de antibióticos en el ganado, como promotores de crecimiento y como destructores de productos agrarios, por lo que al ser ingeridos por las personas representa un riesgo muy grave para la salud, especialmente en niños, ancianos y personas inmunocomprometidas.

5.6 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE RESISTENCIA MICROBIANA DE CEPAS CONTROL Y MUESTRAS AISLADAS ⁽¹⁰⁾

5.6.1 COMPARACIÓN DE CEPAS AISLADAS DE *Escherichia coli* Y CEPA CONTROL

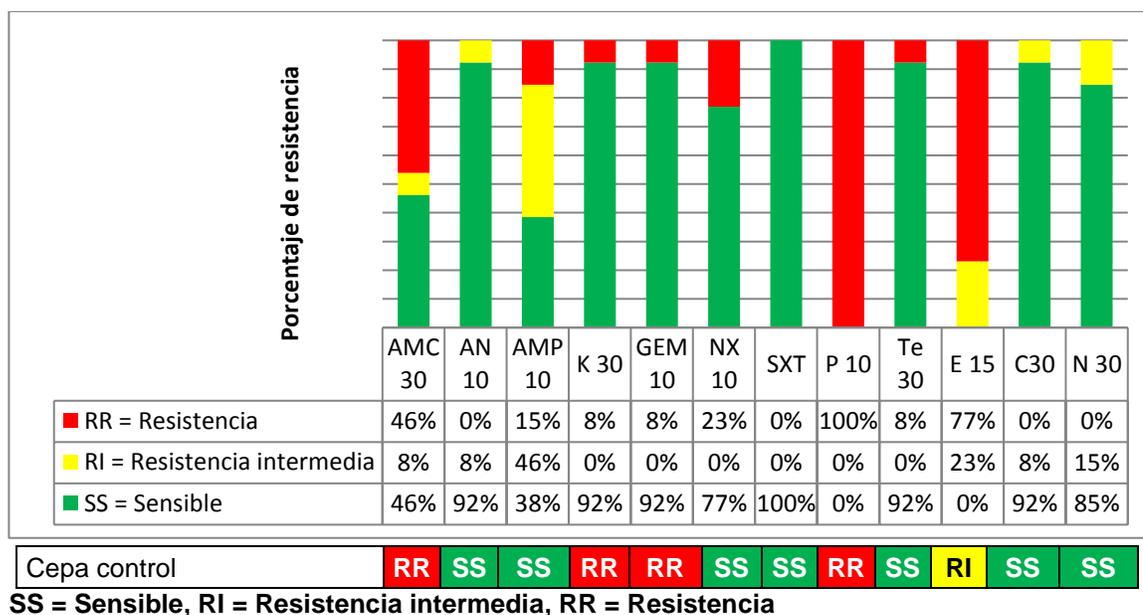
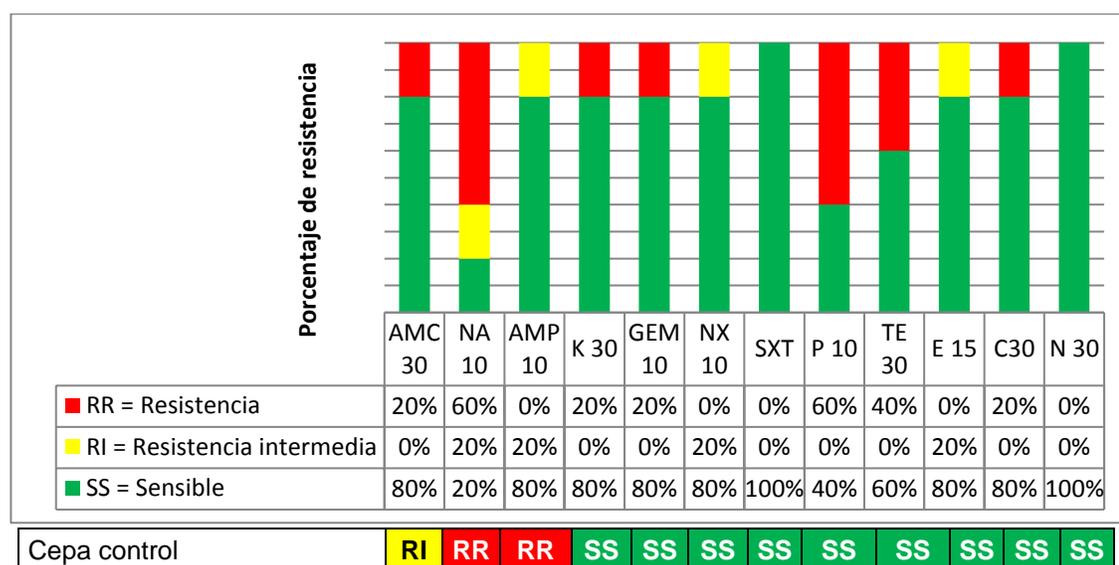


Figura N° 19. Comparación de cepas aisladas de *Escherichia coli* y cepa control

Al comparar los resultados reflejados en figura N° 19, las cepas de *Escherichia coli* aisladas de carne de res adobada con los resultados de cepa control

podemos observar que la cepa control presenta sensibilidad a (SS) Ácido Nalidíxico, ampicilina, Norfloxacin, Tetraciclina, Sulfametoxazole/Trimetroprim, Cloranfenicol y Neomicina. Sin embargo, presenta resistencia a Amoxicilina – ácido Clavulánico, kanamicina, gentamicina y penicilina, dicho comportamiento probablemente se dé por las condiciones y ambientes controlados a los que están sometidos previo al contacto con los antibióticos en estudio, por lo que no ha creado mecanismos de resistencia que impidan hacer su labor de inhibición al antibiótico. Por esta razón se hizo el ensayo con una cepa ATCC para tomarla como cepa control para la comprobar la acción del antibiótico

5.6.2 COMPARACIÓN DE CEPAS AISLADAS DE *Staphylococcus aureus* Y CEPA CONTROL



SS = Sensible, RI = Resistencia intermedia, RR = Resistencia

Figura N° 20. Comparación de cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* y cepa control

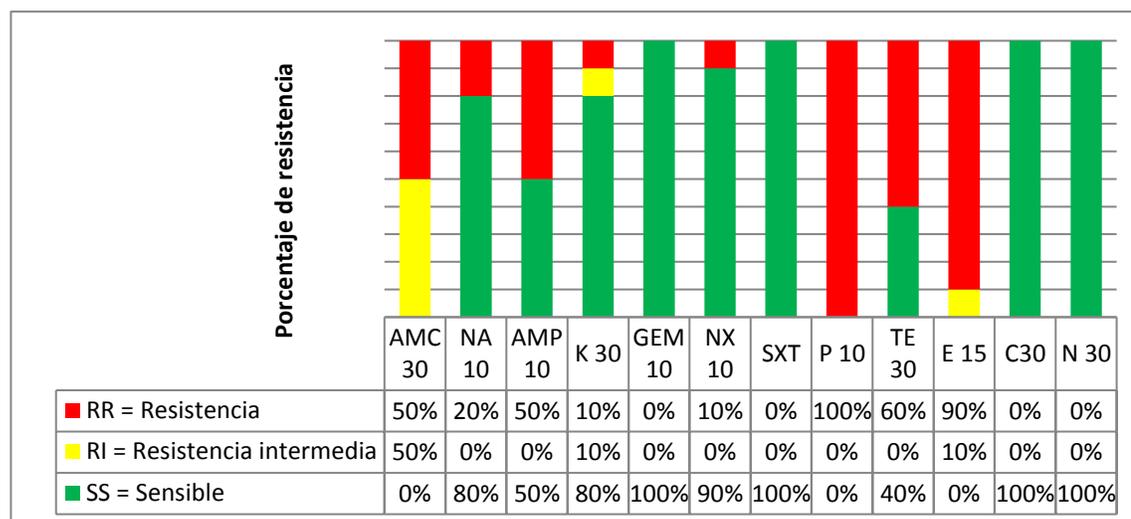
En las cepas de *Staphylococcus aureus* aislados de carne de res adobada comparados con los resultados de *Staphylococcus aureus* control podemos observar que la cepa control presenta resistencia (RR) a Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Resistencia intermedia a Amoxicilina + Ácido Clavulánico, presenta

sensibilidad (SS) a Kanamicina, Gentamicina, Norfloxacin, Sulfametoxazole/Trimetroprim, penicilina, Tetraciclina, Eritromicina, cloranfenicol y Neomicina.

La cepa control presentó multirresistencia ya que mostró resistencia para al menos 2 antibióticos (Ácido Nalidíxico, ampicilina).

Las toxiinfecciones provocadas por este tipo de alimentos pueden ser tratados como primera opción por Amoxicilina + ac. Clavulánico y ampicilina

5.6.3 COMPARACIÓN DE CEPAS AISLADAS DE *Salmonella spp.* Y CEPA CONTROL



Cepa control RI SS SS SS SS SS SS RR SS RR SS SS

SS = Sensible, RI = Resistencia intermedia, RR = Resistencia

Figura N° 21. Comparación de cepas aisladas de *Salmonella spp* y cepa control

Los cultivos de *Salmonella spp* aislados de carne de res adobada con los resultados de cepa control presenta resistencia (RR) a penicilina en, Eritromicina,

Resistencia intermedia a Amoxicilina + Ácido Clavulánico, presenta sensibilidad (SS) a: Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Kanamicina, Gentamicina, Sulfametoxazole/Trimetroprim, Tetraciclina, cloranfenicol y Neomicina.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. En esta investigación las salas de despacho de los supermercados seleccionados presentaron un cumplimiento del 30% de las Buenas Prácticas Higiénicas y lo que repercute en la calidad del producto.
2. Según los parámetros de RTCA 67.04.50:08, *Escherichia coli* se identificó en 13 muestras (59%) del total analizadas (22), mientras que *Salmonella spp* se encontró en 10 muestras (45%) y *Staphylococcus aureus* en 5 muestras (23%). La presencia de estos agentes patógenos en las muestras de carnes magras y adobadas nos indica que no son aptas para el consumo humano.
3. Las cepas aisladas de *Escherichia coli* presentaron multirresistencia a siete antibióticos (amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, gentamicina, penicilina, tetraciclina, eritromicina y cloranfenicol) lo que indica una acción antimicrobiana nula.
4. Las diez cepas de *Salmonella spp*, son multirresistentes a 8 antibióticos (amoxicilina + ácido clavulánico, ácido nalidíxico, ampicilina, kanamicina, norfloxacin, penicilina, tetraciclina, eritromicina). Siendo una opción para el tratamiento antibiótico sulfametoxazole/trimetoprim, cloranfenicol y neomicina los cuales presentan sensibilidad.
5. La multirresistencia presentada por las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* figura la incapacidad de tratar las enfermedades transmitidas por alimentos con buenos resultados, lo que conlleva a el aumento de la gravedad o la duración de las enfermedades, la pérdida de productividad, la reducción de los medios de vida, la seguridad alimentaria, incluyen el aumento de los costos de los tratamientos y la atención de salud.

6. La multirresistencia de cepas control frente a cepas aisladas presentan una marcada diferencia con respecto al número de antibióticos al que reporta resistencia, dicho comportamiento probablemente se dé por las condiciones y ambientes controlados a los que están sometidos previo al contacto con los antibióticos en estudio.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que en futuras investigaciones se realicen análisis a todos los tipos de carnes magras y adobadas (ventas al detalle y empacadas al vacío), comercializadas en las cadenas de supermercados del país, en la que se determinen microorganismos que provocaban alteraciones en las carnes como: *E. coli* O157:H7, *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* con sus respectivos perfiles de multirresistencia que sirvan de referencia para lograr tratamientos con antibióticos más efectivos.
2. Que los supermercados realicen una supervisión periódica a los manipuladores de productos cárnicos responsables del despacho de carnes en las diferentes salas de venta y garantizando la implementación de procesos de higiene, limpieza y sanitización.
3. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) hacer monitoreo en hatos ganaderos con el fin de dar seguimiento a prescripciones de medicamentos en especial a antibióticos, realizadas por veterinarios en patologías específicas de animales en crecimiento y descarte.
4. Al ministerio de Salud Pública realizar mayor número de inspecciones en Buenas Prácticas Higiénicas en salas de venta de los supermercados para garantizar la calidad de los productos cárnicos que se comercializan a nivel nacional y así disminuir las ETA'S por la ingestión de carnes adobadas contaminadas.
5. A los consumidores evitar comprar este tipo de producto por los microorganismos que se encuentran presentes y provocan alteraciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Anadón R., (2007). Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública. (1°ed). Madrid. Realigraf, S. A.
2. Ayalu A. Reda. (2011). Antibiotic susceptibility patterns of *Salmonella* and *Shigella* isolates in Harar, Eastern Ethiopia. Journal of Infectious Diseases and Immunity Vol. 3(8), Recuperado el 12 de abril de 2017.
3. Bonilla G. (1995). Métodos Prácticos de Inferencia Estadística. Estadística II. (2da ed). San Salvador. UCA editores.
4. Calderón G. (2007) Estudio de caso. Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. N°1 (1-50). Recuperado 11 de marzo 2017, de <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/0480s03>
5. Campoverde, F. (2005). Evaluación sensorial y física de un bistec adobado utilizando un corte específico de res. Recuperado 6 de abril de 2016, base de datos biblioteca digital de Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11-036/1064>.
6. Castillo V., Hernández M., Peña Y. (2011). Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revisión de la literatura. Revista Panorama Cuba y Salud. 6(1), 30-38. Recuperado 12 enero 2018.
7. Cavalieri S. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Washington. Recuperado 22 de abril de 2017 de [https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas 2005.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas%202005.pdf)

8. Comités Técnicos de Normalización y de Reglamentación Técnica. (2009). Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de Alimentos. RTCA 67.04.50:08, 17, recuperado 5 de abril de 2018 <https://www.mspas.gob.gt/images/files/drca/normativasvigentes/RTCACriteriosMicrobiologicos.PDF>
9. Comités Técnicos de Normalización y de Reglamentación Técnica. (2003). Industria de alimentos y bebidas procesadas. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales. Recuperado 5 de abril de 2016 de http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/rtca/rtca_67_01_3306_bebidas_procesadas_buenas_practicas.pdf
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formely NCCLS). M100-S14, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. Testing. Fourteenth informational Supplement. (January 2004)
11. Errecalde, J. (2004). Uso de antimicrobianos en animales de consumo.1. Revista FAO Producción y sanidad animal (162). (pp.1-57). Recuperado 5 de febrero 2017.
12. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2007). Manual de buenas practicas para la industria de la carne. Revista de investigacion de producción y sanidad animal.
13. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014. La resistencia a los antimicrobianos, sus mecanismos y epidemiología. Recuperado 17 marzo 2018, de <http://www.fao.org/docrep/007/y5468s/y5468s0d.htm>

14. Ferreira, F. (2005). Infección urinaria durante el embarazo, perfil de resistencia bacteriana al tratamiento en el hospital general de Neiva, Colombia. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 56 No. 3. Series de casos. Recuperado de <https://revista.fecolsog.org/index.php/rcog/-article/view/532>
15. Food and Drug Administration (FDA) (2001) Association of Analytical Communities (AOAC). Métodos microbiológicos de Laboratorio. Bacteriological Analytical Manual: *Salmonella spp.* 2000. Capítulo 5. Recuperado de: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory-Methods/ucm070149.htm>
16. Food and Drug Administration (FDA). Association of Analytical Communities (AOAC). Métodos microbiológicos de Laboratorio. Bacteriological Analytical Manual. 2000. Capítulo 1. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063335.htm>
17. Food and Drug Administration (FDA). Association of Analytical Communities (AOAC). Métodos microbiológicos de laboratorio Manual: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Capítulo 4. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>
18. Food and Drug Administration (FDA). Association of Analytical Communities (AOAC). Métodos microbiológicos de laboratorio Manual: 2000. Enumeration of *Staphylococcus aureus*. Capítulo 12. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>

19. Food and Drug Administration (FDA). Association of Analytical Communities (AOAC). Métodos microbiológicos de laboratorio Manual: 2000 *Listeria monocytogenes*. Capítulo 10. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>
20. González, V., Vásquez, F., (2008). Identificación de *Listeria monocytogenes* en carne de res cruda comercializada en los principales supermercados del área metropolitana de San Salvador. San Salvador
21. Hernández, B., Hernández, J. (2004). Revista Salud Ambiental. Resistencias a antibióticos en *Listeria monocytogenes* y *salmonella* entérica aislados de alimentos de origen animal 4 (1-2), 42-46. Recuperada el 18 de septiembre de 2017, de <http://ojs.diffundit.com/index.php/rsa/article/view/348>
22. Instituto Salvadoreño del Seguro Social. (2015). Listado oficial de medicamentos, normativa de uso y prescripción. (17° ed). Recuperado de <https://www.transparencia.gob.sv/institutions/issd/documents/otrosdocumentos-normativos>
23. López L. (2013). Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (sarm) aislado de muestras de alimentos de origen cárnico en la ciudad de Cartagena. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/11872/1/33199209.2014.pdf>
24. Molina, D., Mejía, C., Campuzano, A., Digiammarco, R. (2001). Industria de Carnes. Editado por la Universidad Nacional de Colombia en la ciudad de Medellín. Recuperado 21 de junio 2016 de <https://docplayer.es/16514427->

Industriadecarnes-diego-alonso-restrepo-molina-claudia-maria-arangomejia-alejandroamezquita-campuzano-renato-arturo-restrepodigiammarco.html

25. OPS/OMS. (1997). Vigilancia y prevención de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Subcomité de Planificación y Programación del Comité Ejecutivo. 29ª sesión, 1 y 2 de diciembre, 1997. Recuperado 21 de junio 2016 <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/19075/doc232.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Pascual, M. y Calderón, V. (2000). Microbiología Alimentaria. (2º ed). Madrid. Díaz de Santos S.A. Juan Bravo.
27. Peña Y. (2008). Estudio de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp* aisladas de alimentos. Revista científica de La Habana, Cuba. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2008000200010
28. Pérez, M., Ponce, E. (2013). Tecnología de carnes. (1º ed). Iztapalapa. Editorial Mexicana.
29. Quizhpe A, (2014). Uso apropiado de antibióticos y resistencia bacteriana (p27). Ecuador Reglamento técnico centroamericano, RTCA 67.004.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Recuperado el 12 de octubre de 2017 de <https://www.Reactgroup.org/wpcontent/uploads/2016/10/Uso-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf>

30. Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria (SENASA) (2000). Reglamento de inspección de carnes y productos cárnicos en Honduras. Ley fitozoosanitaria. Recuperado de http://www.vertic.org/media/National+%20Legislation/Honduras/HN_Ley_Fito_Zoosanitaria.pdf

31. Suárez E. (2015). Resistencia bacteriana en El Salvador Análisis Situacional. Recuperado de https://www.salud.gob.sv/archivos/pdf/telesalud_2016_presentaciones/presentacion17032016/RB-MAR-2016.pdf

32. Urrutia C. Guerra G.(2012). Detección de *Salmonella spp* resistente a antibióticos en carne molida de res distribuidas en los supermercados en la zona 2 del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador. San Salvador.

GLOSARIO

Antibiótico: Sustancia de origen microbiano que, en cantidades muy pequeñas, tiene actividad microbiana. ⁽¹³⁾

Bacterias: Microorganismo procariótico unicelular pertenecientes al reino monera. Casi todos son desintegradores, aunque algunos son parásitos o autótrofos. ⁽²⁶⁾

Carne magra: Carne sin grasa y sin hueso. ⁽²⁴⁾

Coliformes: Bacilos gram-negativos, no esporulantes, facultativos, que fermentan la lactosa en formación de gas en un lapso de 48 horas a 35°C. ⁽¹⁷⁾

Cultivo: Cepa o clase particular de un organismo que crece en un medio de laboratorio. ⁽¹⁵⁾

Multirresistencia: Bacteria resistente a más de dos familias de antibióticos a las que habitualmente no lo es. ⁽¹¹⁾

Resistente: Las cepas resistentes no son inhibidas por las concentraciones séricas normalmente alcanzadas a dosis habituales o presentan mecanismos específicos de resistencia microbiana y la eficacia clínica no ha sido comprobada (NCCLS 2002). ⁽¹⁰⁾

Sensible: Esta categoría implica que una infección dada por la cepa en estudio puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que hubiera contraindicaciones. ⁽¹⁰⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1

**LISTA DE CHEQUEO DE BUENAS PRÁCTICAS HIGIÉNICAS DE SALAS DE
VENTA.**

Tabla N° 1: LISTA DE CHEQUEO DE BUENAS PRACTICAS HIGIENICAS DE SALAS DE VENTA.

Lista de chequeo de buenas prácticas de higiene de los supermercados a evaluar											
Puntos de comercialización a evaluar		Fecha	04/07/17								
		Estrato	1	Estrato	1	Estrato	2	Estrato	3	Estrato	4
		Sucursal	1	Sucursal	2	Sucursal	1	Sucursal	1	Sucursal	1
	OBSERVACION	Si	No								
I	Ubicación y alrededores										
1	Zona sanitariamente adecuada	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Alrededores limpios y libres de focos de infección	✓		✓		✓		✓		✓	
II	Vestuario de personal										
1	Uso correcto de uniforme		✓	✓			✓	✓		✓	
2	Gorro o redecilla	✓		✓		✓		✓		✓	
4	Guantes descartables		✓		✓		✓		✓		✓
5	Vestuario de uso exclusivo		✓		✓		✓		✓		✓
6	Vestuario limpio (de preferencia de color claro)		✓	✓			✓	✓		✓	
7	Botas de hule	✓		✓		✓		✓		✓	
III	Higiene personal										
1	Manos limpias	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Uñas recortadas	✓		✓		✓		✓		✓	
3	Uñas sin esmalte	✓		✓		✓		✓		✓	
4	No joyas (anillos, pulseras, relojes, etc.)		✓		✓		✓		✓		✓
IV	Cámaras refrigerantes										
1	Contenedor en buen estado	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Contenedores debidamente rotulados	✓		✓		✓		✓		✓	
3	Contenedor con adecuada iluminación		✓		✓		✓		✓		✓
4	Control de temperatura visible	✓		✓		✓		✓		✓	
5	Utensilios para cada compartimento de carnes		✓		✓		✓		✓		✓
6	Contenedor debidamente protegido del polvo	✓		✓		✓		✓		✓	

Tabla N°2 LISTA DE CHEQUEO DE BUENAS PRACTICAS HIGIENICAS DE SALAS DE VENTA

Lista de chequeo de buenas prácticas de higiene de los supermercados a evaluar											
Puntos de comercialización a evaluar		Fecha	18/07/17								
		Estrato	1	Estrato	1	Estrato	2	Estrato	3	Estrato	4
		Sucursal	1	Sucursal	2	Sucursal	1	Sucursal	1	Sucursal	1
OBSERVACION		Si	No								
I	Ubicación y alrededores										
1	Zona sanitariamente adecuada	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Alrededores limpios y libres de focos de infección	✓		✓		✓		✓		✓	
II	Vestuario de personal										
1	Uso correcto de uniforme	✓		✓		✓		✓			✓
2	Gorro o redecilla	✓		✓		✓		✓		✓	
4	Guantes descartables		✓		✓		✓		✓		✓
5	Vestuario de uso exclusivo		✓		✓		✓		✓		✓
6	Vestuario limpio (de preferencia de color claro)	✓		✓		✓		✓			✓
7	Botas de hule	✓		✓		✓		✓		✓	
III	Higiene personal										
1	Manos limpias	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Uñas recortadas	✓		✓		✓		✓		✓	
3	Uñas sin esmalte	✓		✓		✓		✓		✓	
4	No joyas (anillos, pulseras, relojes, etc.)		✓		✓		✓		✓		✓
IV	Cámaras refrigerantes										
1	Contenedor en buen estado	✓		✓		✓		✓		✓	
2	Contenedores debidamente rotulados	✓		✓		✓		✓		✓	
3	Contenedor con adecuada iluminación		✓		✓		✓		✓		✓
4	Control de temperatura visible	✓		✓		✓		✓		✓	
5	Utensilios para cada compartimento de carnes		✓		✓		✓		✓		✓
6	Contenedor debidamente protegido del polvo	✓		✓		✓		✓		✓	

ANEXO N° 2.

Carnes magras y tipos de adobos muestreados

Cuadro N° 25. Código de muestras de carne de res adobadas por supermercado y sus especialidades, muestreo 1 y 2.

Muestreo	Código de Muestra	Código de Supermercado	Tipo de carne de res adobada
1	050701CR01	E101I	Criollo
	050702CH02	E101I	Churrasco
	050703MG05	E101I	Magra
	050704CR01	E201S	Criollo
	050705CH02	E201S	Churrasco
	050706MG05	E201S	Magra
	050707CR01	E303S	Criollo
	050708CH02	E303S	Churrasco
	050709JP03	E303S	Jalapeño
	050710MG05	E303S	Magra
2	180701CR01	E102I	Criollo
	180702CH02	E102I	Churrasco
	180703SE04	E102I	Suavizado económico
	180704MG05	E102I	Magra
	180705CR01	E202S	Criollo
	180706CH02	E202S	Churrasco
	180707SE04	E202S	Suavizado económico
	180708MG05	E202S	Magra
	180709CR01	E302S	Criollo
	180710CH02	E302S	Churrasco
	180711SE04	E302S	Suavizado económico
	180712MG05	E302S	Magra

ANEXO N° 3

MATERIALES, EQUIPO Y REACTIVOS

ANEXO N° 3

Materiales

- Agitadores de vidrio
- Asa bacteriológica
- Balones volumétricos de 50, 100, 500, 1000 mL
- Beaker de 30, 50, 100, 400, 600, 1000 mL
- Campanas de Durhan
- Embudo de vidrio tallo corto y largo
- Erlenmeyer de 125, 250, 1000 mL
- Frascos para diluciones
- Gradillas para tubos de ensayo
- Mechero Bunsen
- Micropipeta de 10 uL
- Pipeta de morh de 1.0 mL, 5.0 mL y 10.0 mL
- Pipetas volumétricas de 1.0 mL, 5.0 mL y 10.0 mL
- Placas de petri
- Portaobjetos
- Probetas de 10, 25, 50, 100, 500, 1000 mL.
- Tubos de ensayo
- Tubos de hemólisis
- Varillas estériles en forma de "L"

Equipo:

- Autoclave
- Balanza Analítica
- Balanza Semi analítica
- Balanza Granataria

- Baño María.
- Cabina de flujo laminar
- Estufa
- Hot Plate
- Incubadora
- pHmetro

Reactivos

- Agua oxigenada al 3%
- Agua peptonada buferada
- Agar Baird Parker
- Agar Bismuto Sulfito (BS)
- Agar bilis y rojo violeta (VRBA)
- Agar citrato
- Agar de Eosina azul de metileno (EMB)
- Agar Mackonkey
- Agar Mueller–Hinton
- Agar TSI
- Agar sangre de carnero al 5%.
- Agar tripticasa soya
- Agar Xilosa lisina Desoxicolato (XLD)
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)
- Caldo MR-VP
- Caldo Rappaport-Vasiliadis (RVS)
- Caldo Tetrionato (TT)
- Caldo triptona
- Extracto de levadura (TSAye)

- KOH 40%
- Peróxido de hidrógeno a 3%
- Plate Count Agar (PCA)
- Reactivo Kovacs
- Solución de α -naftol
- Salmonella – Shigella (SS)

ANEXO N° 4

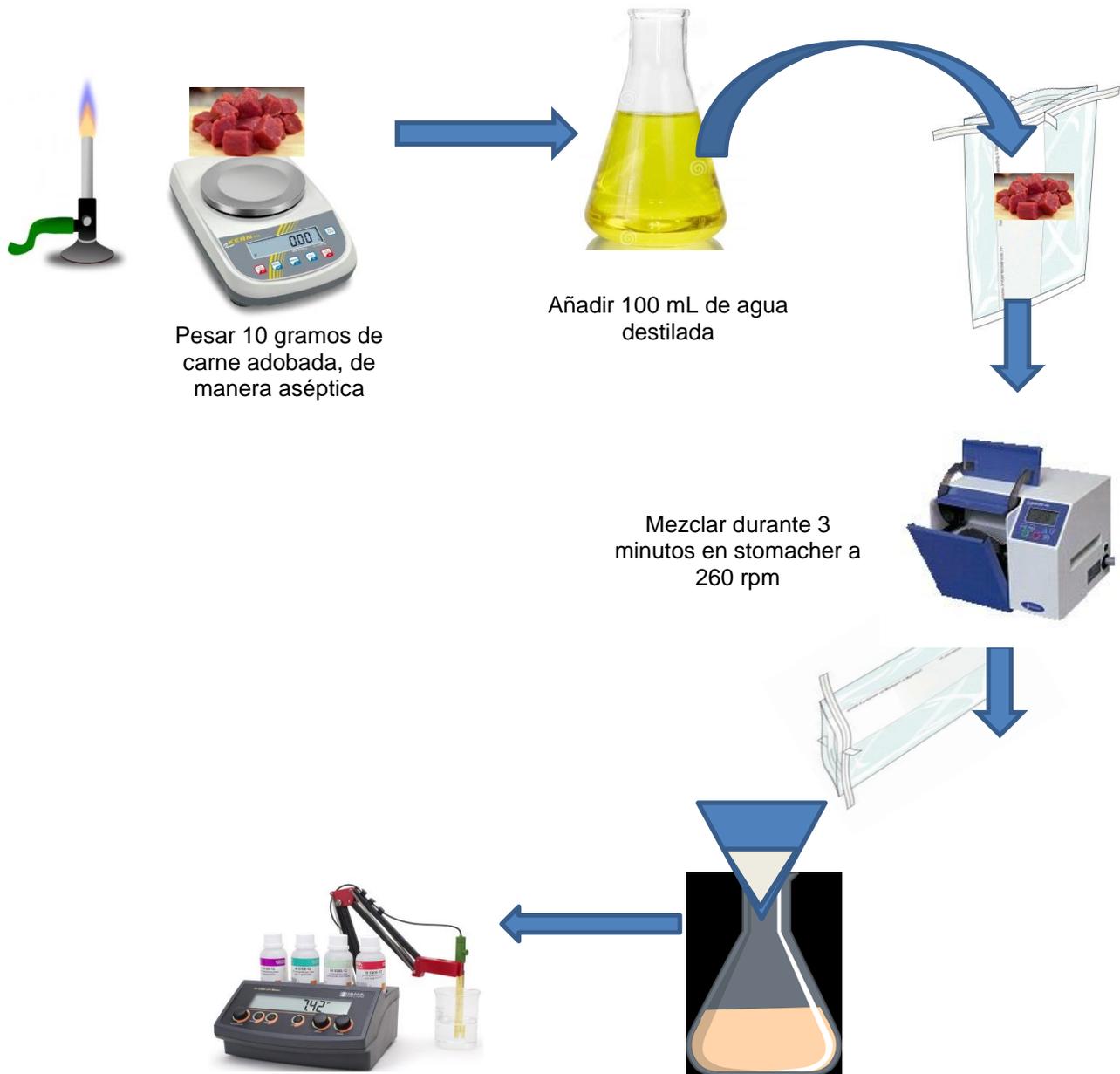


Figura N° 22. Esquema para la determinación de pH.

ANEXO N° 5

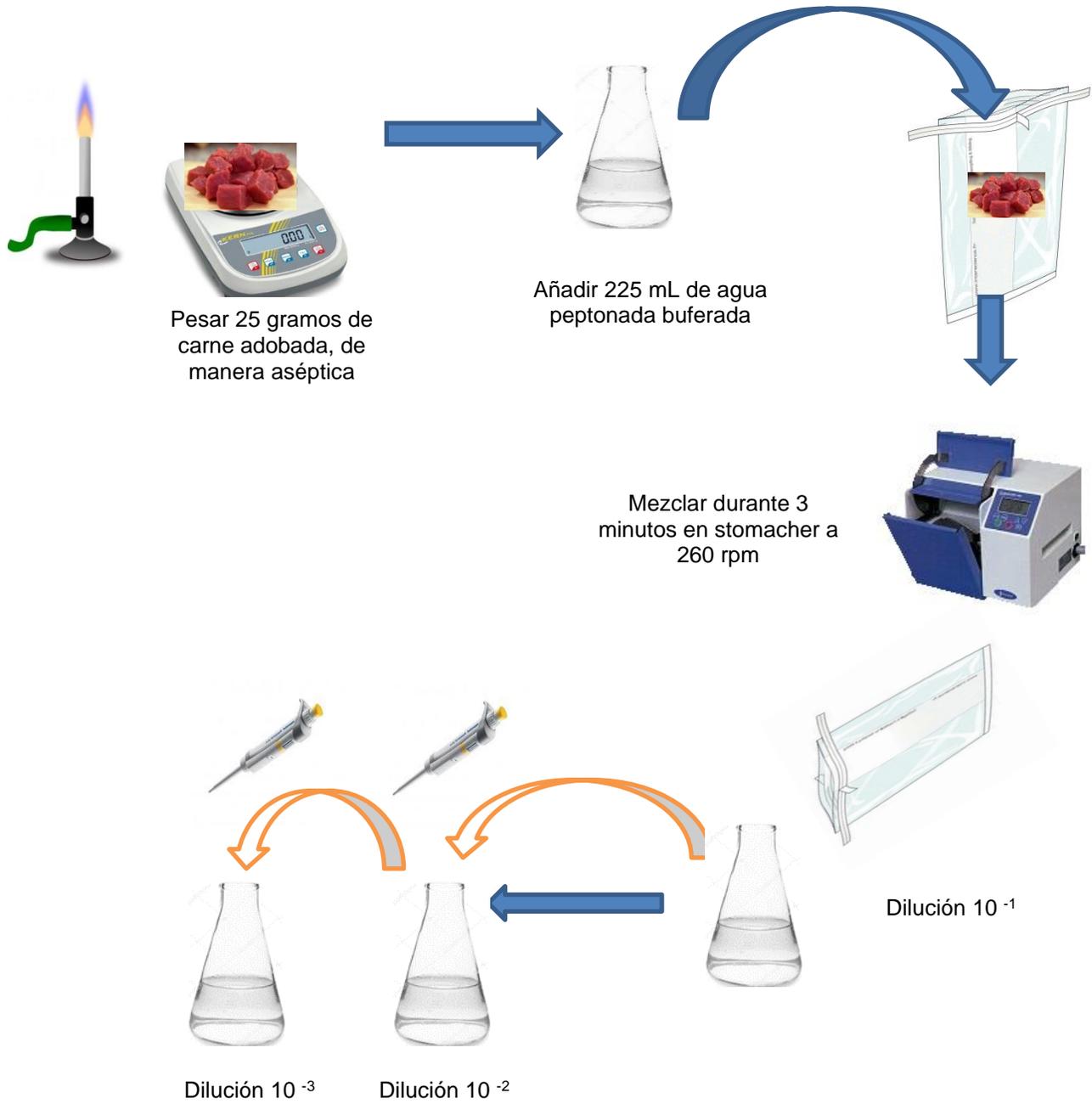


Figura N° 23. Preparación de diluciones para pruebas microbiológicas

ANEXO N°6

ENUMERACIÓN DE COLIFORMES FECALES y *Escherichia coli*

ANEXO N° 6.

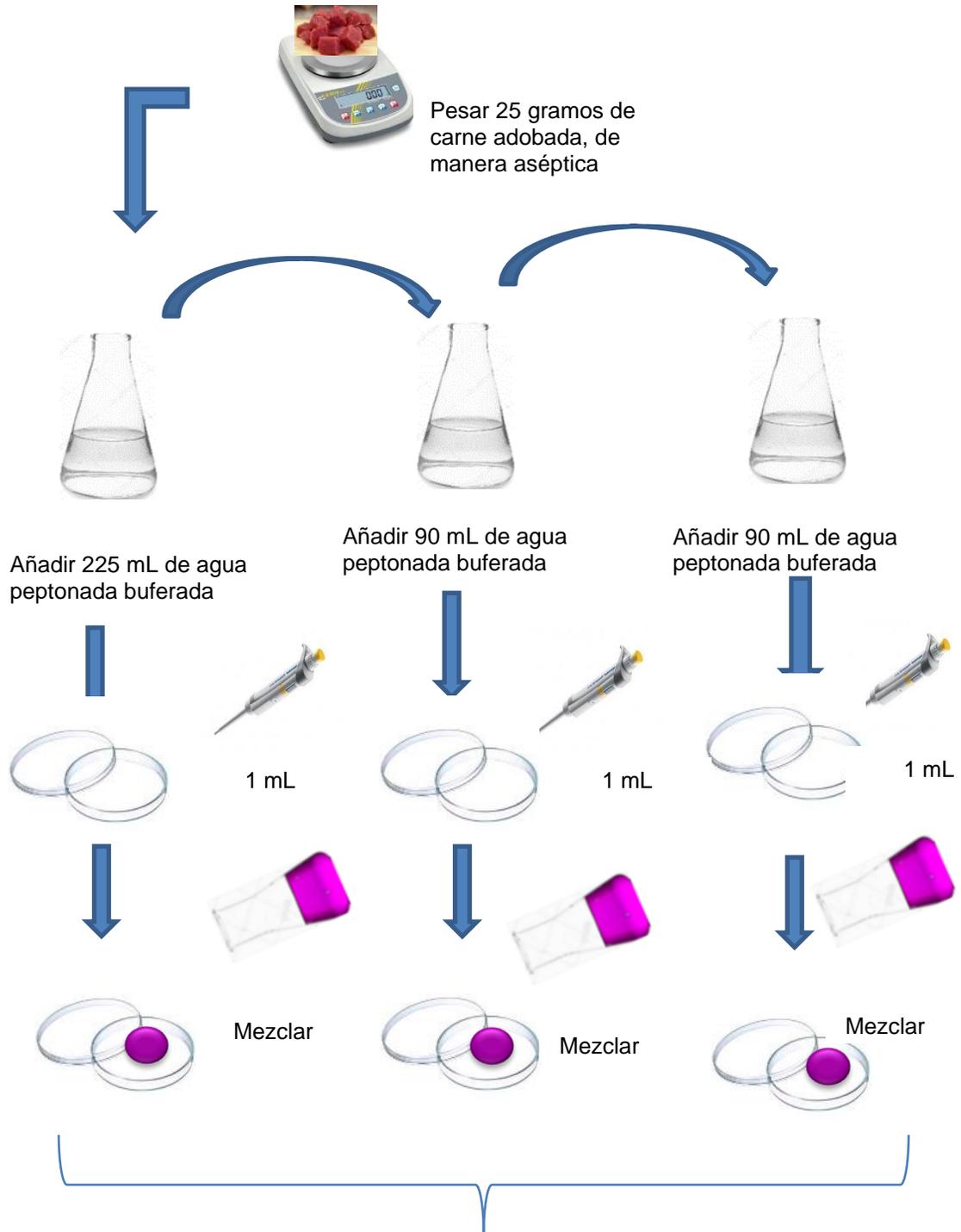


Figura N° 24. Enumeración de coliformes fecales y *Escherichia coli*



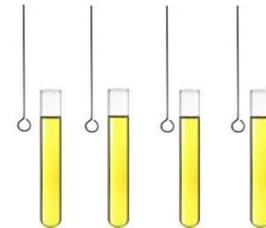
Las placas fueron invertidas y se incubaron de 18 – 24 horas a 35°C.



Las placas fueron examinadas en un cuenta colonias. Se contaron las colonias de color rojo – púrpura de 0.5 mm de diámetro y rodeadas de



De las colonias sospechosas. Se seleccionaron 4 colonias y se transfirieron cada una a un tubo de caldo EC



Los tubos se incubaron a 44.5 ± 0.5 °C, por un periodo de 24 a 48 hora



Los tubos con producción de gas y turbidez, estriar cada tubo positivo en agar EMB



Colonias características de *Escherichia coli* transferir a PCA, para reizar pruebas bioquímicas

Figura N° 24. Continuación

ANEXO N° 7.

Cálculo de UFC/g para *E coli* y *Staphylococcus aureus*

Se consideran “representativas” las placas que tienen un número de colonias, entre 25 y 250 UFC.

Una vez seleccionadas las placas y obtenga los promedios correspondientes se aplica el factor de dilución, que es el inverso y se redondea el número a dos cifras significativas (o dígitos) y potencias de 10. Por ejemplo, si en una caja se cuentan 2,037 UFC/g, se debe reportar por aproximación como 2.0×10^3 UFC/g

Ejemplo:

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
		
X	Y	Z
p1 $300 \times 10 = 3000$	p1 $35 \times 100 = 3500$	p1 $2 \times 1000 = 2000$
p2 $350 \times 10 = 3500$	p2 $38 \times 100 = 3800$	p2 $5 \times 1000 = 5000$
Sub total = 6500	Sub total = 7300	Sub total = 7000
Total = $20,800 \div 6$		
= 3466 UFC/g.		

Para confirmación se tomaron 4 colonias, los porcentajes de *E coli* y *Staphylococcus aureus* se obtuvieron de la siguiente manera

mx1 = 3 colonias (+)

4 — 100%

3 — 75%

Entonces: $3466 \text{ UFC/g} \times 0.75 = 2599.5 \text{ UFC}$

Se reportan: 26000 UFC/g o 2.6×10^3 UFC/ de *E coli* o *Staphylococcus aureus*

ANEXO N° 8.

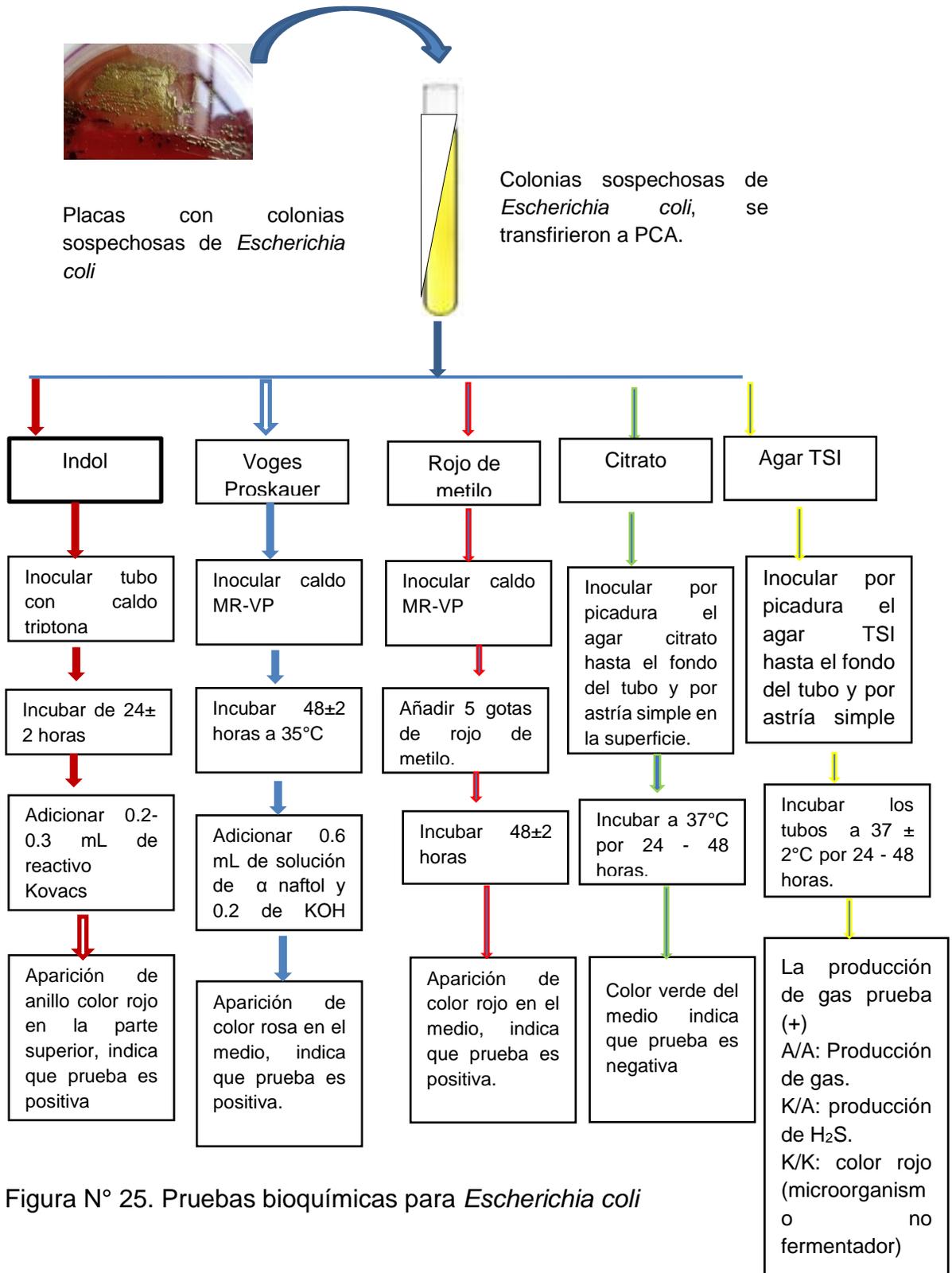


Figura N° 25. Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*

ANEXO N° 9

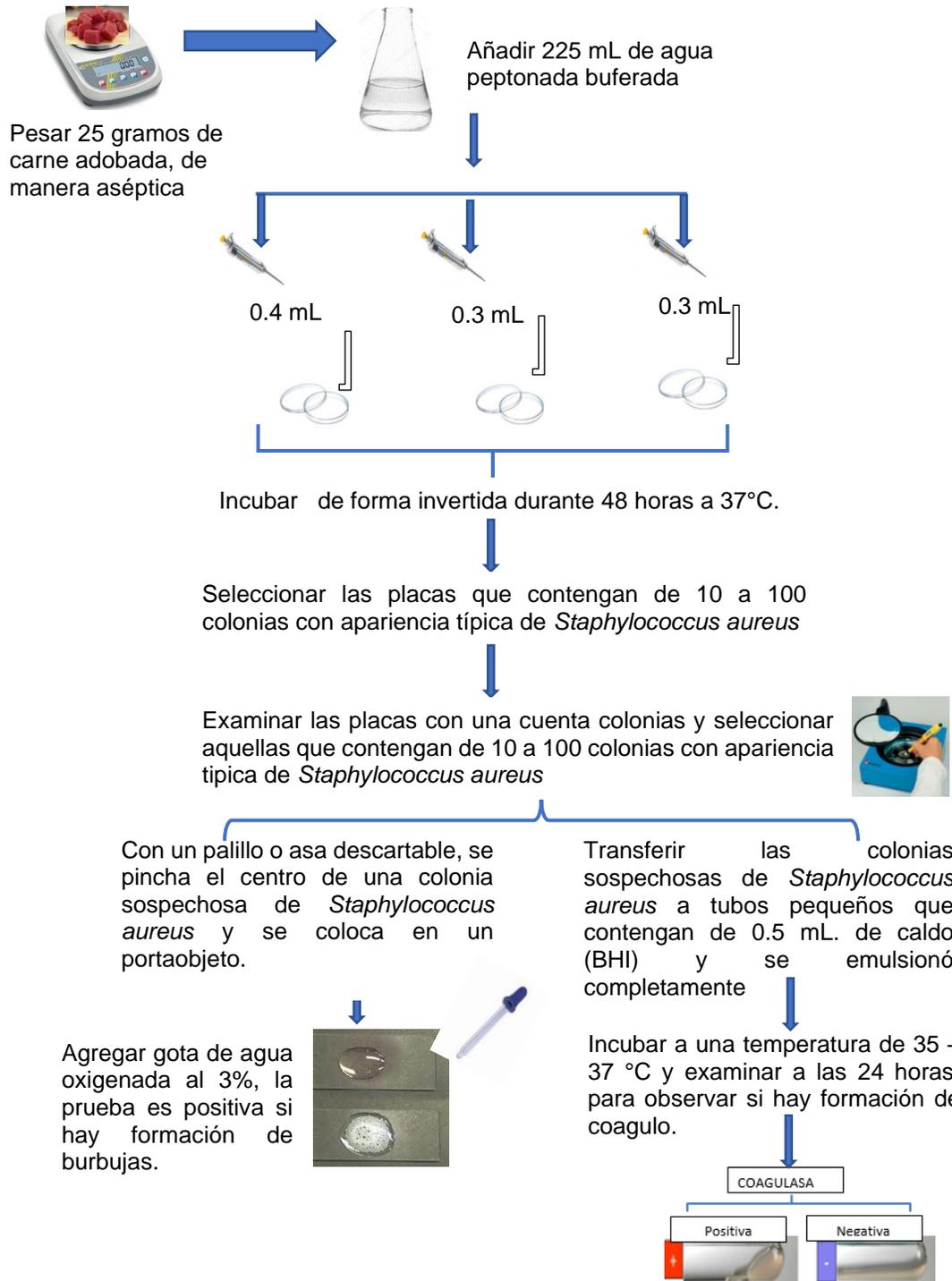


Figura N° 26. Enumeración y prueba de confirmación de *Staphylococcus aureus*

ANEXO N° 10

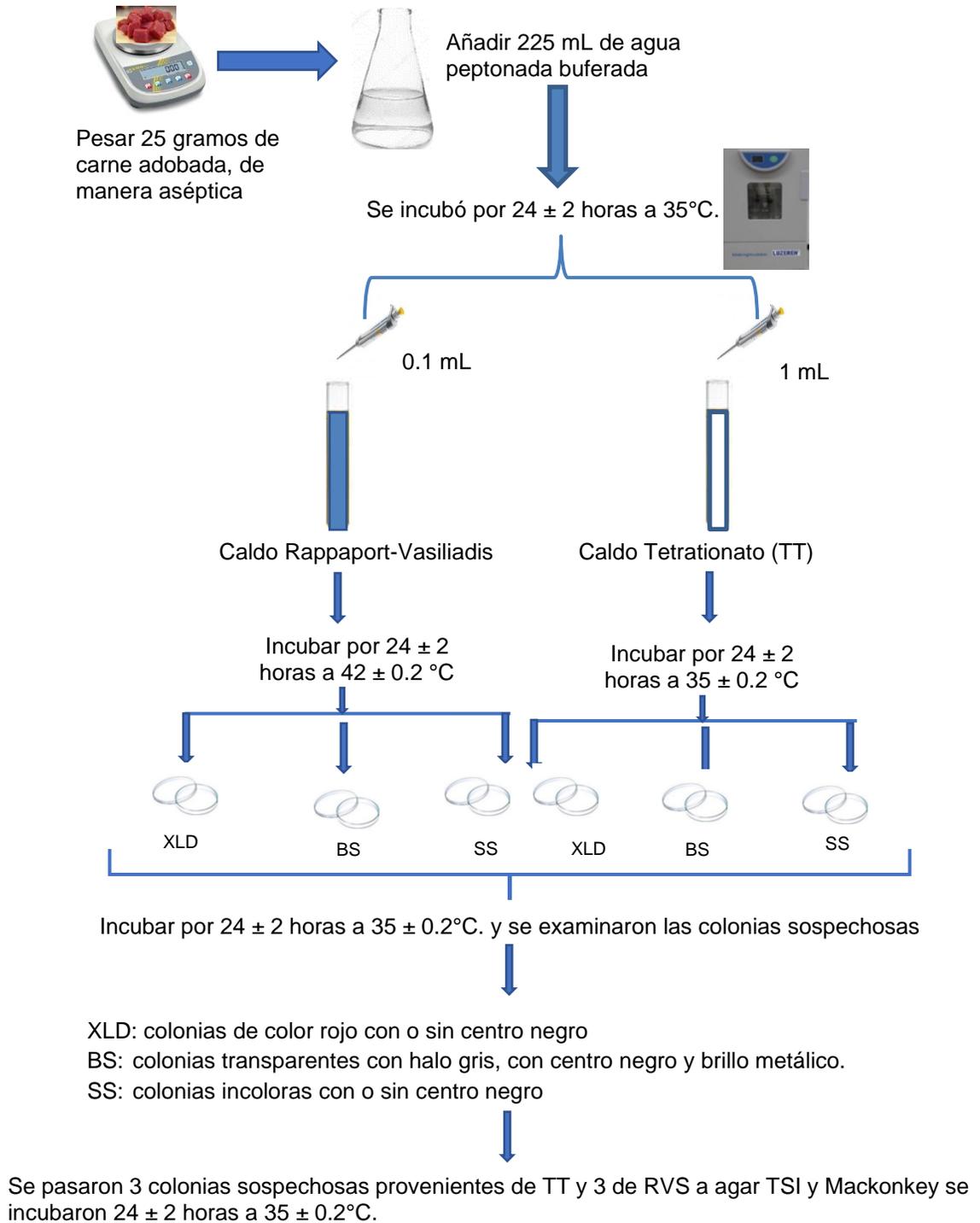


Figura N° 27. Determinación de *Salmonella spp*

ANEXO N° 11.

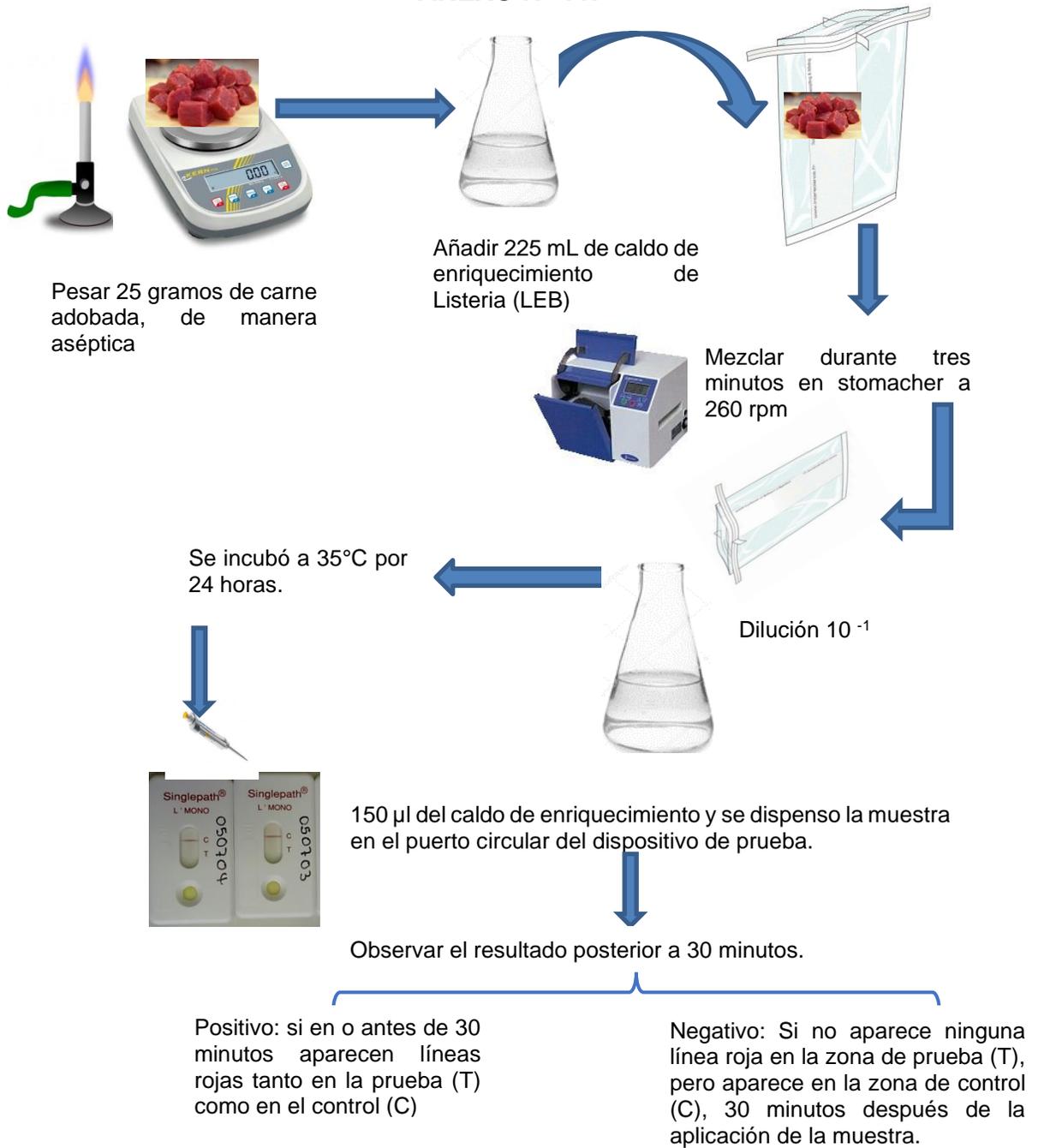


Figura N° 28. Prueba presuntiva de *Listeria monocytogenes*

ANEXO N°12

DETERMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes*.

ANEXO N° 12.

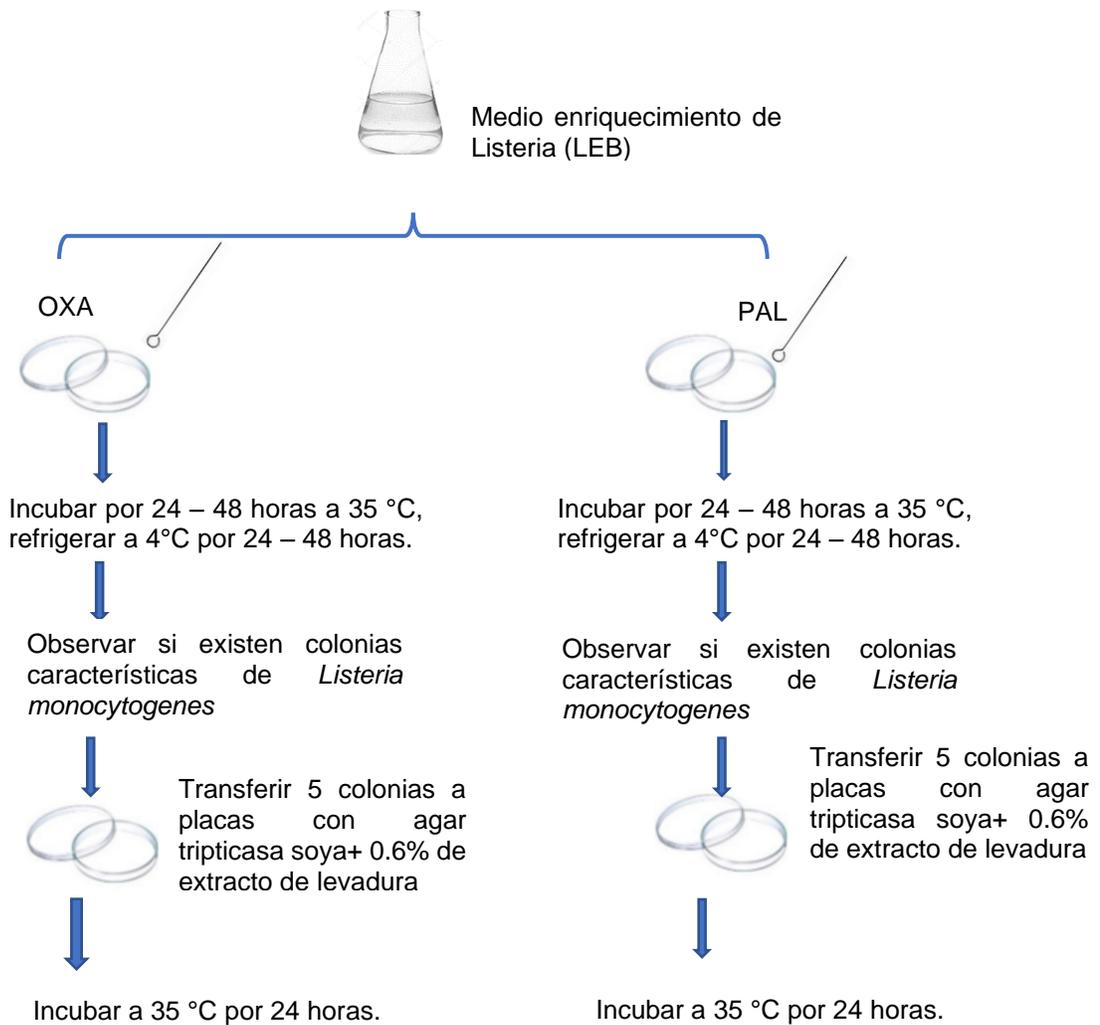


Figura N° 29. Determinación de *Listeria monocytogenes*

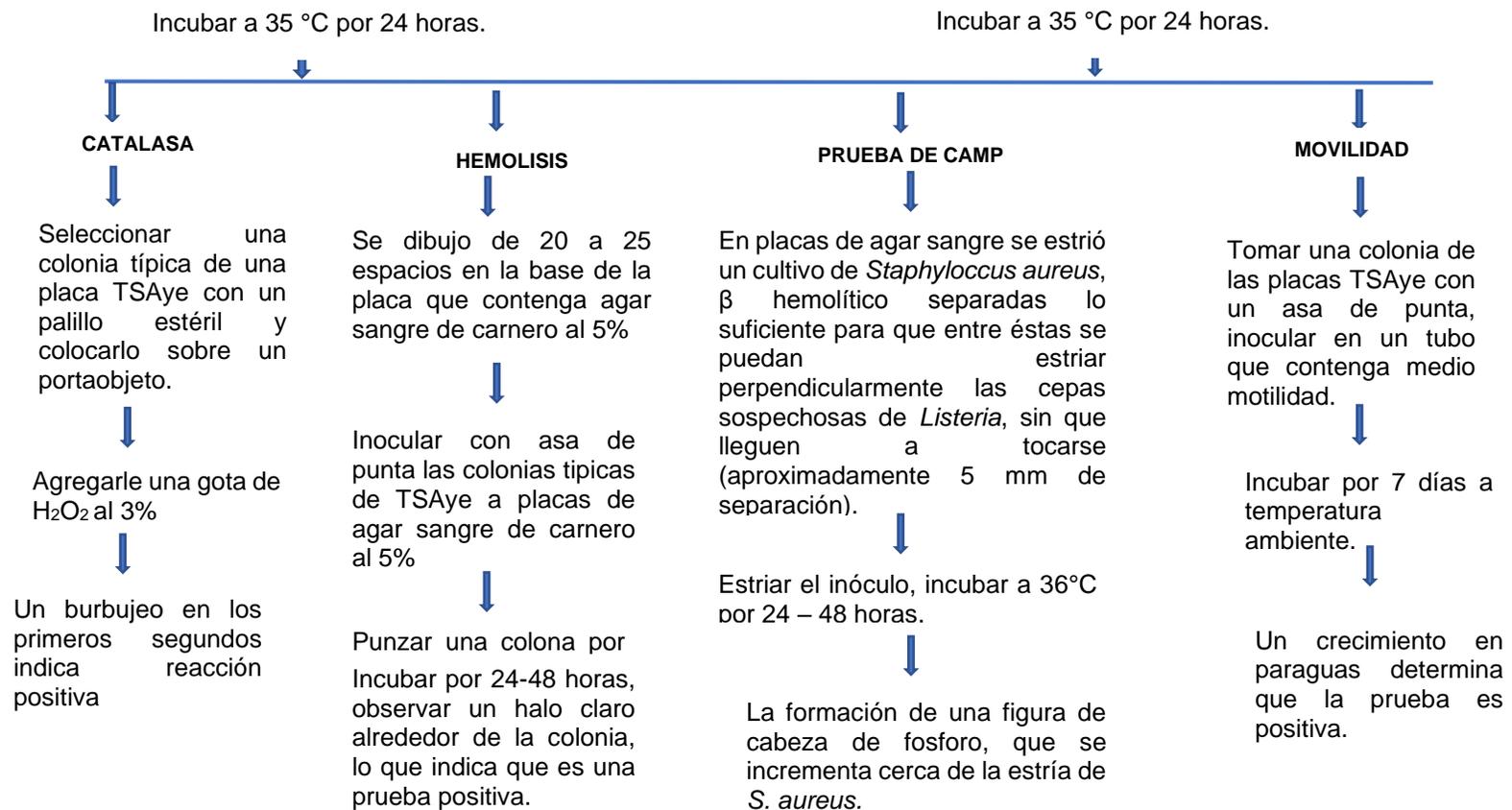
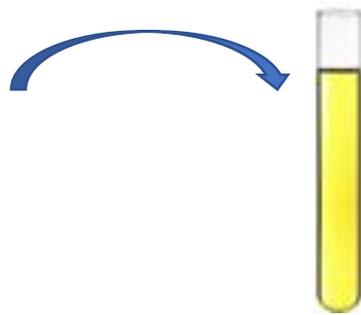


Figura N° 29. Continuación

ANEXO N° 13

Tomar una o dos colonias del crecimiento en TSA de cada aislado confirmado como *E. coli*, *Staphylococcus aureus* o *Salmonella spp* y transferirlo a un tubo con solución salina.



Solución salina al 0.85%

Homogenizar la suspensión hasta una turbidez similar al estándar 0.5 McFarland.

Esto resulta en una suspensión que contiene aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL del microorganismo.

Pasado 15 minutos, sumergir un hisopo que es rotado varias veces y presionado firmemente contra la pared del tubo sobre el nivel del líquido, para remover el exceso.

Inocular la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton, estriando sobre toda la superficie en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.



Colocar 6 discos de antibióticos individuales, en cada placa (2 placas por muestra). Invertir las placas e incubar a 35°C en un periodo de 16 a 24 horas.



Examinar las placas y medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

Figura N° 30. Esquema preparación del inóculo

ANEXO N° 14.

Cuadro N° 26. Interpretación de halo para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* basado en la normativa Comité Nacional de Laboratorio Clínico Estandarizados, CLSI (NCCLS). ^{(8) (19) (23)}

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	Símbolo	<i>Escherichia. coli</i>		<i>St. aureus</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>	
				R	S	R	S	R	S	R	S
1	Amoxicilina + ac. Clavulonico	30/10 µg	AMC 30	≤13mm	≥18 mm	≤13mm	≥18 mm	≤13mm	≥18 mm	≤13mm	≥18 mm
2	Ácido Nalidíxico	30µg	AN 10	≤13mm	≥19 mm	≤13mm	≥19 mm	≤13mm	≥19 mm	≤13mm	≥19 mm
3	Ampicilina	10µg	AMP 10	≤13mm	≥17 mm	≤11mm	≥15 mm	≤13mm	≥17 mm	≤13mm	≥17 mm
4	Kanamicina	25µg	K 30	≤13mm	≥18mm	≤13mm	≥18mm	≤13mm	≥18mm	≤13mm	≥18mm
5	Gentamicina	10µg	GEM 10	≤12mm	≥15mm	≤12mm	≥15mm	≤12mm	≥15mm	≤12mm	≥15mm
6	Norfloxcina	10µg	NX 10	≤12mm	≥17mm	≤12mm	≥17mm	≤12mm	≥78mm	≤14mm	≥17mm
7	Sulfametoxazol/ Trimetroprim	23.75/1.15µg	SXT	≤10mm	≥16mm	≤10mm	≥16mm	≤10mm	≥16mm	≤10mm	≥16mm
8	Penicilina G	10 UI	P 10	≤19mm	≥20mm	≤28mm	≥29mm	≤19mm	≥20mm	≤19mm	≥20mm
9	Tetraciclina	30µg	Te 30	≤11mm	≥15mm	≤14mm	≥19mm	≤11mm	≥15mm	≤11mm	≥15mm
10	Eritromicina	15µg	E 15	≤13mm	≥23mm	≤13mm	≥23mm	≤13mm	≥23mm	≤13mm	≥23mm
11	Cloranfenicol	30µg	C30	≤12mm	≥18mm	≤12mm	≥18mm	≤12mm	≥18mm	≤12mm	≥18mm
12	Neomicina	30µg	N 30	≤12mm	≥17mm	≤12mm	≥17mm	≤12mm	≥17mm	≤12mm	≥17mm

R= Resistencia, S= Sensible, ≤ = Menor o igual, ≥ mayor o igual

ANEXO N° 15.

INFORME DE RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	<i>E.coli</i>		MUESTRAS			
			diametro (mm)		050701 E	050703 E	050704 E	050705 E
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	18.0 SS	23.6 SS	22.0 SS	23.0 SS
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	19.0 SS	25.8 SS	26.0 SS	25.0 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	16.0 RI	23.0 SS	23.3 SS	9.6 RR
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	20.4 SS	18.0 SS	18.7 SS	20.0 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	21.0 SS	21.0 SS	23.0 SS	22.0 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	26.0 SS	28.0 SS	29.0 SS	25.3 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	28.0 SS	32.5 SS	28.7 SS	26.7 SS
8	Penicilina G **	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	22.0 SS	25.5 SS	26.0 SS	23.0 SS
10	Eritromicina **	15µg	≤ 13	≥ 23	10.0 RR	16.7 RI	18.0 RI	10.4 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	24.0 SS	26.7 SS	28.3 SS	24.6 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	20.9 SS	16.0 RI	18.0 SS	18.0 SS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	<i>E.coli</i>		MUESTRAS		
			diametro (mm)		050706 E	050709 E	050710 E
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	18.5 SS	17.3 RI	21.9 SS
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	24.0 SS	23.0 SS	23.0 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	16.5 RI	16.4 RI	20.0 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	18.0 SS	19.3 SS	22.0 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	23.0 SS	22.0 SS	24.5 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	31.0 SS	28.0 SS	28.4 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	28.0 SS	27.5 SS	30.0 SS
8	Penicilina G **	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	26.0 SS	22.0 SS	18.3 SS
10	Eritromicina **	15µg	≤ 13	≥ 23	6.0 RR	10.7 RR	17.3 RI
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	23.5 SS	21.0 SS	26.0 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	16.0 RI	18.0 SS	20.5 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

- Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	Salmon spp.		MUESTRAS		
			R	S	050702 S	050703 S	050707 S
			diametro (mm)		RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	14.6 RI	6.0 RR	13.2 RI
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	6.0 RR	10.0 RR	22.6 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	18.2 SS	6.0 RR	24.0 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	15.0 RI	9.0 RR	21.0 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	21.4 SS	17.7 SS	22.6 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	12.0 RR	33.0 SS	36.9 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	28.6 SS	17.0 SS	26.5 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	6.0 RR	16.0 SS	6.0 RR
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	26.9 SS	18.0 SS	28.6 SS
12	Neomicina	30µg	≤ 12	≥ 17	23.0 SS	20.0 SS	22.5 SS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	Salmon spp.		MUESTRAS		
			R	S	050708 S	050710 S	CONTROL
			diametro (mm)		RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	17.5 RI	15.5 RI	24.6 SS
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	24.0 SS	24.0 SS	22.5 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	23.5 SS	25.0 SS	20.0 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	21.9 SS	24.0 SS	21.0 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	24.0 SS	23.4 SS	23.0 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	37.0 SS	31.8 SS	32.0 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	28.0 SS	27.4 SS	28.4 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	6.0 RR	20.0 SS	21.0 SS
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	6.0 RR	14.0 RI	11.0 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	28.0 SS	27.4 SS	25.0 SS
12	Neomicina	30µg	≤ 12	≥ 17	23.5 SS	21.0 SS	21.0 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

- Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	St. aureus		MUESTRAS		
			diametro (mm)		050703 St	050705 St	050706 St
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico**	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	33.0 SS	23.5 SS	32.0 SS
2	Acido Nalidixico **	30µg	≤ 13	≥ 19	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
3	Ampicilina **	10µg	≤ 11	≥ 15	32.0 SS	19.0 SS	32.5 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	31.0 SS	26.6 SS	24.6 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	29.0 SS	30.6 SS	32.0 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	28.3 SS	23.0 SS	26.9 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	28.0 SS	31.6 SS	27.4 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 28	≥ 29	23.0 RR	6.0 RR	22.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 14	≥ 19	8.0 RR	23.4 SS	13.6 RR
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	27.4 SS	22.0 RI	27.8 SS
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	25.0 SS	31.9 SS	25.9 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	26.3 SS	26.0 SS	25.5 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

- Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

Muestreo 2

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	<i>E.coli</i>		MUESTRAS			
			diametro (mm)		180701 E	180703 E	180704 E	180709 E
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	10.1 RR	7.1 RR	8.1 RR	10.6 RR
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	24.1 SS	25.1 SS	24.1 SS	16.1 RI
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	16.1 RI	16.1 RI	16.1 RI	20.1 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	21.1 SS	23.1 SS	21.1 SS	21.1 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	23.2 SS	2.1 RR	22.4 SS	23.1 SS
6	Norfloxacin	10µg	≤ 12	≥ 17	6.0 RR	34.1 SS	6.0 RR	6.0 RR
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	30.2 SS	31.5 SS	35.1 SS	33.4 SS
8	Penicilina G **	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	16.1 SS	10.0 RR	21.1 SS	23.6 SS
10	Eritromicina **	15µg	≤ 13	≥ 23	11.8 RR	6.0 RR	6.0 RR	7.2 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	24.3 SS	17.6 RI	27.1 SS	25.1 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	20.0 SS	22.0 SS	21.3 SS	23.1 SS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	<i>E.coli</i>		MUESTRAS		
			diametro (mm)		180711 E	180712 E	CONTROL
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	10.4 RR	10.1 RR	8.5 RR
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	25.1 SS	23.4 SS	31.5 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	20.1 SS	10.1 RR	20.0 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	23.6 SS	6.0 RR	6.0 RR
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	22.7 SS	29.1 SS	6.0 RR
6	Norfloxacin	10µg	≤ 12	≥ 17	38.1 SS	35.1 SS	28.8 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	29.4 SS	30.1 SS	31.7 SS
8	Penicilina G **	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	25.1 SS	17.1 SS	30.0 SS
10	Eritromicina **	15µg	≤ 13	≥ 23	6.0 RR	6.0 RR	13.8 RI
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	26.1 SS	24.1 SS	28.1 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	18.1 SS	22.1 SS	25.0 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible
 - Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.
 ** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	Salmon spp.		MUESTRAS		
			diametro (mm)		180705 S	180706 S	180709 S
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	30.0 SS	29.6 SS	23.3 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	8.0 RR	7.0 RR	6.0 RR
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	22.8 SS	23.7 SS	22.6 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	24.0 SS	21.0 SS	22.0 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	37.0 SS	30.7 SS	34.4 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	32.8 SS	31.9 SS	33.0 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	6.0 RR	6.0 RR	8.0 RR
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	10.8 RR	7.0 RR	6.0 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	22.0 SS	33.0 SS	27.4 SS
12	Neomicina	30µg	≤ 12	≥ 17	22.0 SS	22.8 SS	24.9 SS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	Salmon spp.		MUESTRAS		
			diametro (mm)		180711 S	180712 S	CONTROL
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	16.0 RI	6.0 RR	16.4 RI
2	Acido Nalidixico	30µg	≤ 13	≥ 19	22.3 SS	23.6 SS	23.0 SS
3	Ampicilina	10µg	≤ 13	≥ 17	19.5 SS	6.0 RR	20.9 SS
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	22.9 SS	22.0 SS	20.3 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	21.5 SS	21.5 SS	22.0 SS
6	Norfloxacina	10µg	≤ 12	≥ 17	32.0 SS	36.0 SS	31.9 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	33.7 SS	36.0 SS	33.5 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 19	≥ 20	6.0 RR	6.0 RR	6.0 RR
9	Tetraciclina	30µg	≤ 11	≥ 15	17.0 SS	26.6 SS	26.8 SS
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	12.0 RR	6.0 RR	10.0 RR
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	28.0 SS	20.9 SS	25.7 SS
12	Neomicina	30µg	≤ 12	≥ 17	23.0 SS	23.0 SS	23.0 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

- Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS

N° de Disco	Antibiótico	Concentración	St. aureus		MUESTRAS		
			diametro (mm)		180705 St	180705 St	CONTROL
			R	S	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
1	Amoxicilina + Ac. Clavulonico**	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	6.0 RR	31.1 SS	16.0 RI
2	Acido Nalidixico **	30µg	≤ 13	≥ 19	15.1 RI	21.1 SS	12.0 RR
3	Ampicilina **	10µg	≤ 11	≥ 15	12.1 RI	48.6 SS	2.1 RR
4	Kanamicina	20µg	≤ 13	≥ 18	6.0 RR	37.1 SS	24.2 SS
5	Gentamicina	10µg	≤ 12	≥ 15	6.0 RR	33.1 SS	24.1 SS
6	Norfloxacin	10µg	≤ 12	≥ 17	12.7 RI	34.5 SS	27.8 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	41.1 SS	46.1 SS	36.0 SS
8	Penicilina G	10 UI	≤ 28	≥ 29	39.1 SS	30.8 SS	31.4 SS
9	Tetraciclina	30µg	≤ 14	≥ 19	40.1 SS	45.1 SS	34.0 SS
10	Eritromicina	15µg	≤ 13	≥ 23	30.1 SS	35.5 SS	32.3 SS
11	Cloranfenicol	30µg	≤ 12	≥ 18	6.0 RR	36.5 SS	27.8 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	40.1 SS	35.6 SS	34.5 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

- Especificaciones basadas en MS100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2016.

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMAS
Listeria monocytogenes CEPA CONTROL

Nº de Disco	Antibiótico	Concentración	<i>Lmono</i>		CONTROL
			R	S	RESULTADO
1	Amoxicilina +Ac. Clavulónico**	30/10 µg	≤ 13	≥ 18	19.9 SS
2	Acido Nalidixico **	30µg	≤ 13	≥ 19	6.0 RR
3	Ampidilina **	10µg	≤ 13	≥ 17	27.0 SS
4	Kanamicina **	20µg	≤ 13	≥ 18	22.8 SS
5	Gentamicina **	10µg	≤ 12	≥ 15	25.0 SS
6	Norfloxacina **	10µg	≤ 14	≥ 17	17.3 SS
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim**	23.75/1.15µg	≤ 10	≥ 16	35.0 SS
8	Penicilina G**	10 UI	≤ 19	≥ 20	11.8 RR
9	Tetraciclina **	30µg	≤ 11	≥ 15	18.7 SS
10	Eritromicina **	15µg	≤ 13	≥ 23	6.0 RR
11	Cloranfenicol **	30µg	≤ 12	≥ 18	21.6 SS
12	Neomicina **	30µg	≤ 12	≥ 17	25.4 SS

Interpretación de resultados: **RR**=resistencia, **RI**=resistencia intermedia, **SS**=sensible

** Especificaciones proporcionadas por el solicitante, adaptadas de distintas fuentes bibliográficas.

ANEXO N° 16.

IDENTIFICACION Y AISLAMIENTO

INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: CARNES ADOBADAS Códigos: 050701 al 10

Punto de muestreo: Salas de venta Procedencia: supermercados varios

Solicitante: Maritza Martínez / Verónica Blanco Fecha de emisión: 25-08-2017

Método: (1) Determinación de pH, por método potenciométrico. (2) Recuento de *Escherichia coli*, por el método de vertido en placa, Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 4. (3) Recuento de *Staphylococcus aureus*, por el método de esparcido en placa. Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 12. (4) Detección de *Listeria monocytogenes*, por el método de ausencia-presencia. Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 10.

Fecha de Muestreo: 05-07-2017 Hora de Muestreo: No especificada

Persona que tomó la muestra: Maritza Martínez / Verónica Blanco

Descripción: Tejido muscular, con diversas tonalidades de rojo a café, con olor característico a carne con especias.

Código muestra	Tipo de carne	DETERMINACIONES (Límite máximo) / RESULTADOS				
		pH (valor promedio de pH ± desviación estándar)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
			(100 UFC/g)	100 UFC/g)	(Ausencia/25g)	(Ausencia/25g)
050701	criollo	4.80 ± 0.01	525	< 10	Ausencia	Ausencia
050702	churrasco	5.56 ± 0.01	< 10	< 10	Presencia	Ausencia
050703	magra	5.63 ± 0.05	305	84	Presencia	Ausencia
050704	criollo	4.95 ± 0.02	1,236	< 10	Ausencia	Ausencia
050705	churrasco	5.51 ± 0.06	975	676	Ausencia	Ausencia
050706	magra	5.63 ± 0.00	9,750	1,864	Ausencia	Ausencia
050707	criollo	4.94 ± 0.04	< 10	< 10	Presencia	Ausencia
050708	churrasco	5.42 ± 0.00	< 10	< 10	Presencia	Ausencia
050709	jalapeño	5.20 ± 0.01	21,833	< 10	Ausencia	Ausencia
050710	magra	5.90 ± 0.00	32,000	< 10	Presencia	Ausencia

OBSERVACIONES:

- (1) Especificaciones basadas en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Subgrupo 8.3. Carnes curadas crudas.
 (2) El presente informe contiene 4 páginas y corresponde únicamente a las muestras remitidas y ensayadas.

INFORME DE ANÁLISIS

Nombre de la muestra: **CARNES ADOBADAS** Códigos: **180701 al 12**
 Punto de muestreo: **Salas de venta** Procedencia: **supermercados varios**
 Solicitante: **Maritza Martínez / Verónica Blanco** Fecha de emisión: **25-08-2017**
 Método: **(1)** Determinación de pH, por método potenciométrico. **(2)** Recuento de *Escherichia coli*, por el método de vertido en placa, Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 4. **(3)** Recuento de *Staphylococcus aureus*, por el método de esparcido en placa. Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 12. **(4)** Detección de *Listeria monocytogenes*, por el método de ausencia-presencia. Manual de Análisis Bacteriológico, BAM capítulo 10.
 Fecha de Muestreo: **18-07-2017** Hora de Muestreo: **No especificada**
 Persona que tomó la muestra: **Maritza Martínez / Verónica Blanco**

Descripción: **Tejido muscular, con diversas tonalidades de rojo a café, con olor característico a carne con especias.**

Código muestra	Tipo de carne	DETERMINACIONES (Límite máximo) / RESULTADOS				
		pH (valor promedio de pH ± desviación estándar)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
			(100 UFC/g)	100 UFC/g)	(Ausencia/25g)	(Ausencia/25g)
180701	criollo	5.14 ± 0.01	1,304	< 10	Ausencia	Ausencia
180702	churrasco	6.41 ± 0.00	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
180703	suavizado económico	6.11 ± 0.01	593	< 10	Ausencia	Ausencia
180704	magra	5.69 ± 0.04	604	< 10	Ausencia	Ausencia
180705	criollo	5.47 ± 0.04	< 10	350	Presencia	Ausencia
180706	churrasco	5.97 ± 0.02	< 10	< 10	Presencia	Ausencia
180707	suavizado económico	5.94 ± 0.01	< 10	768	Ausencia	Ausencia
180708	magra	5.69 ± 0.05	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
180709	criollo	4.85 ± 0.03	1,103	< 10	Presencia	Ausencia
180710	churrasco	5.43 ± 0.12	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
180711	suavizado económico	5.74 ± 0.04	13,725	< 10	Presencia	Ausencia
180712	magra	5.53 ± 0.04	158	< 10	Presencia	Ausencia

OBSERVACIONES:

(1) Especificaciones basadas en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Subgrupo 8.3. Carnes curadas crudas.

ANEXO N° 17

LISTADO DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN MUESTRAS ANALIZADAS

Cuadro N° 27. Listado de microorganismos presentes en muestras analizadas.

N° de aislados	PROCEDENCIA		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	050701	050702	050703
2	050703	050703	050705
3	050704	050707	050706
4	050705	050708	180705
5	050706	050710	180707
6	050709	180705	
7	050710		
8	180701	180709	
9	180703	180711	
10	180704	180712	
11	180709		
12	180711		
13	180712		

En el cuadro anterior se detallan el tipo de microorganismos identificados en las muestras de carnes adobadas y magras.

En aquellas muestras en las que se encuentran mas de dos microorganismos patógenos se han identificado con colores por muestra.

ANEXO N° 18.

LISTADO DE FAMILIAS DE ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE POTENCIALES PATÓGENOS ZONÓTICOS ⁽¹⁾

Cuadro N° 28. Familias de antibióticos utilizados para el tratamiento de potenciales patógenos zoonóticos.

Familia	Subfamilia
Aminoglucósidos	Aminociclitol, aminoglicósido
Ansamicinas	Rifamicinas
Cefalosporinas	Cefalosporina 1G, 3G y 4G
Diaminopirimidinas	Diaminopirimidas
Fosfomicina	Fosfomicina
Imidazoles	Nitroimidazoles
Lincosamidas	Lincosamidas
Macrólidos	Macrólido
Penicilinas	Amidinopenicilina, aminopenicilinas, penicilinas naturales, penicilinas, antiestafilocococas, feboxipenicilinas
Fenicoles	Fenicoles
Pleuromutilinas	Pleuromutilinas
Polipéptidos	Polipéptido ciclico
Quinolonas	Quinolonas 1G, quinolona 2G (fluroquinolona)
Quinoxalinas	Quinoxalina
Sulfamidas	Sulfamidas
Sulfamidas + diamonopirimidas	Sulfamidas + diamonopirimidas
Tetraciclinas	Tetraciclinas

ANEXO N° 19.

MEDICAMENTOS AUTORIZADOS EN LOS ESTADOS UNIDOS PARA USO DE ANIMALES PRODUCTORES DE ALIMENTOS ⁽¹⁾

Cuadro N° 29. Medicamentos autorizados en los estados unidos para uso de animales productores de alimentos.

Objetivos	Animales Vacunos
Tratamiento de varias infecciones	Amoxicilina Cefapirina Fluoroquinolona Gentamicina Novobiocina Penicilina Sulfamidas Tilmicosina Tilosina
Crecimiento y eficacia alimentaria	Bacitracina Clortetraciclina Lasalocid Monensina Oxitetraciclina

ANEXO N° 20.

ESPECIES BACTERIANAS MÁS COMUNES EN ADQUISICIÓN DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS AISLADAS EN ANIMALES ⁽¹⁾

Cuadro N° 29. Especies bacterianas más comunes en adquisición de resistencia a antimicrobianos aisladas en animales.

Patógenos zoonóticos	<i>Salmonella</i>
	<i>Compylobacter</i>
	<i>Yersinia enterocolotica</i>
	<i>Listeria monocytogenes</i>
Patógenos animales	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Serpulina hyodysenteriae</i>
Agentes comensales (no patógenos)	<i>Enterococcus spp</i>

ANEXO N° 20.

PREPARACIÓN DE ESTADAR 0.5 MACFARLAND

Para estandarización de la densidad del inóculo para la prueba de susceptibilidad se utilizó estándar de turbidez de BaSO₄, equivalente a un estándar 0.5 McFarland o su equivalente óptico. Un estándar de 0.5 McFarland de BaSO₄ se preparó de la siguiente manera:

- A una alícuota de 0,5 ml de 0,048 m/L de BaCl₂ (1,175% p/v BaCl₂ x 2H₂O) se le agregó a 99,5 ml de H₂SO₄ de 0,18 mol/L (1% v/v) con agitación constante para mantener la suspensión.
- La densidad correcta del estándar de turbidez se verificó usando un espectrofotómetro con una celda de 1 cm de paso de luz con una cubeta de calibración para determinar la absorbancia. La absorbancia a 625 nm debe ser 0.08 a 0.10 para el estándar de 0,5 McFarland.
- La suspensión de Sulfato de Bario se transfirió en alícuotas de 4 a 6 mL. a tubos con tapa.
- Los tubos fueron sellados y almacenados en la oscuridad a temperatura ambiente.

El estándar de turbidez se agitó antes de usar y se observó una apariencia turbia uniforme.