



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Aislamiento e identificación de *Salmonella* resistente a
antibióticos en muestras de pollo recolectadas en expendios
comerciales**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la bachiller Carolina Uzcátegui
Bacco como requisito parcial para
optar al título de Licenciado en
Biología.

Tutora: MSc. Palomino, Carolina

CARACAS, VENEZUELA
Marzo - 2012

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) son aquellas que se originan por la ingestión de alimentos y/o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales que afecten la salud del consumidor en forma individual o colectiva. Estas enfermedades constituyen uno de los problemas de salud más extendidos en el mundo.

Entre los bacilos Gram-negativos que provocan gastroenteritis alimentarias, los más comunes son los del género *Salmonella*. La salmonelosis es considerada como la enfermedad más importante transmitida por alimentos en países en desarrollo. El pollo y sus productos son reconocidos como fuente importante de infecciones transmitidas por alimentos, causadas por este patógeno.

En la cría de pollos se utilizan los antibióticos con fines terapéuticos, profilácticos y como promotores de crecimiento. Bacterias resistentes a antibióticos en animales destinados al consumo amenazan la eficiencia de antibióticos aplicados en humanos, si los genes de resistencia se incorporan a la microflora intestinal humana. De este modo, se ha reportado que el uso extensivo de antibióticos ha permitido el desarrollo de cepas de *Salmonella* spp. resistentes.

En torno a esto, es necesario investigar la posible resistencia a antibióticos desarrollada por distintos patógenos transmitidos por alimentos, entre los cuales *Salmonella* representa un elevado porcentaje.

El objetivo principal de este trabajo fue aislar e identificar especies de *Salmonella* resistente a antibióticos en muestras de pollo recolectadas en expendios comerciales del área metropolitana.

Se realizó el aislamiento y la identificación de cepas de *Salmonella* en muestras de vísceras de pollo. Posteriormente se evaluó la resistencia y multiresistencia a antibióticos en estas cepas aisladas, mediante el método de disco difusión, y finalmente se determinó la concentración mínima inhibitoria, de cada antibiótico, a través de microdiluciones.

Se aislaron 9 cepas de *Salmonella* en 32 muestras de vísceras de pollo, lo cual representa un 28.13%. Esto nos indica que los pollos adquiridos en el área metropolitana no se encuentran exentos de este patógeno.

Con respecto a la resistencia, se obtuvo un 88.89% de cepas resistentes a uno o más antibióticos, lo que significa que casi la totalidad de las cepas que se aislaron de las vísceras de pollo son resistentes al menos a un antibiótico. Aunado a esto, se obtuvo un 55.56% de cepas multiresistentes a antibióticos, lo que significa que más de la mitad de las cepas que se aislaron de las vísceras de pollo presentaron multiresistencia.

La mayor resistencia se presentó frente a los antibióticos tetraciclina, ácido nalidíxico, ampicilina, trimetoprima-sulfametoxazol y cefalotina (con porcentajes de resistencia entre 88.89% y 44.44%). Posiblemente estos antibióticos son utilizados en mayor grado en la avicultura, lo cual ha contribuido a un aumento de la resistencia hacia los mismos. Los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, ciprofloxacina, ceftazidime y ácido nalidíxico mostraron sensibilidad intermedia con valores entre 44.44% y 11.11%, lo que significa que es posible que el porcentaje de resistencia obtenido en este estudio tienda a aumentar en un futuro.

Con estos resultados se intuye que, probablemente, en la avicultura se está haciendo uso indebido de antibióticos, ya sea con fines profilácticos, terapéuticos o como promotores

de crecimiento, el cual está generando el desarrollo de bacterias patógenas resistentes, en esta materia prima, que pueden transmitirse a los consumidores a través de la cadena alimentaria y provocar una disminución en la eficiencia de antibióticos aplicados en humanos, si estos genes de resistencia se incorporan en las poblaciones bacterianas humanas.

Por otro lado, no se obtuvo diferencia significativa entre los resultados obtenidos en la clasificación de la susceptibilidad entre el método de disco difusión con los obtenidos con el método de microdilución. Esto indica que ambos métodos pueden ser utilizados para determinar la susceptibilidad de una cepa a un cierto antibiótico.

AGRADECIMIENTOS

- ✚ A Dios por darme constancia y perseverancia en esta carrera y por ayudarme a seguir adelante en los momentos más difíciles.

- ✚ A mis padres, Nery y Marcelo, por brindarme todas las herramientas necesarias que me hicieron ser la persona que soy hoy en día y guiarme por el buen camino. Todo lo que he logrado se lo debo a ustedes. Gracias por su apoyo, cariño, ayuda y consejos.

- ✚ A mis hermanos, Nerymar, Marialejandra y Marcelo, por estar siempre conmigo y apoyarme en todo.

- ✚ A Attilio Santaniello por estar conmigo durante casi toda la carrera y darme ánimos en los momentos más difíciles. Gracias por toda la ayuda y el apoyo que me has brindado en todo este tiempo y por la paciencia que me has tenido. El camino fue más fácil gracias a ti.

- ✚ A mi tutora MSc. Carolina Palomino, mi tocaya, por contribuir en mi formación como profesional. Una gran parte de mi aprendizaje te lo debo a ti, ya que fui tu alumna, tu pasante y tu tesista. Gracias por estar siempre disponible para guiarme y ayudarme cada vez que lo necesitaba.

- ✚ A la Universidad Central de Venezuela por brindarme una educación gratuita de excelente nivel académico. Especialmente a todos los profesores que contribuyeron con mi educación durante toda la carrera.

- ✚ A todos los profesores y licenciados que contribuyeron en la elaboración de este trabajo especial de grado: Especialmente a la Dra. Elisabetta Tomé por la compra de los materiales necesarios a través del proyecto N° 03-7371-2008 (CDCH), a la Dra. Leymaya Guevara por el suministro de las galerías API, a la Licenciada Indira Pérez por ayudarnos en la lectura de las galerías API en el CVCM y a la Licenciada Mariana Eleizalde por ayudarnos en la lectura de las placas de microtitulación en el IDECYT.

- ✚ A todos mis compañeros y amigos que me acompañaron en el trayecto de esta carrera.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCION.....	15
2. ANTECEDENTES.....	17
2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's).....	17
2.2 <i>Salmonella</i>	18
2.2.1 Descripción.....	18
2.2.2 Clasificación.....	19
2.2.3 Reservorio.....	21
2.2.4 Modo de transmisión.....	21
2.2.5 Salmonelosis.....	22
2.2.6 Alimentos vehículos.....	24
2.3 Pollo.....	25
2.3.1 <i>Salmonella</i> en pollo.....	26
2.4 Antibióticos.....	29
2.4.1 Clasificación.....	29
2.4.2 Modo de acción.....	33
2.4.3 Uso en animales.....	35
2.4.4 Resistencia.....	36
2.4.5 Adquisición de la resistencia.....	37
2.4.6 Mecanismos de resistencia.....	38
2.4.7 <i>Salmonella</i> resistente en pollo.....	39
2.4.8 Multirresistencia.....	42
3. OBJETIVOS.....	44

3.1 Objetivo general.....	44
3.2 Objetivos específicos.....	44
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
4.1 Lugar de trabajo.....	45
4.2 Muestreo.....	45
4.3 Materiales y equipos.....	45
4.4 Métodos.....	49
4.4.1 Aislamiento de <i>Salmonella</i> en muestras de pollo.....	49
4.4.2 Identificación de colonias presuntivas de <i>Salmonella</i>	53
4.4.3 Expresión de los resultados.....	57
4.4.4 Detección de cepas de <i>Salmonella</i> resistente a antibióticos.....	57
4.4.5 Análisis de la multirresistencia.....	59
4.4.6 Detección de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico (CMI).....	59
4.4.7 Análisis estadístico de los resultados.....	61
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
5.1 Aislamiento e identificación de cepas de <i>Salmonella</i> en muestras de pollo.....	63
5.2 Detección de cepas de <i>Salmonella</i> resistente a antibióticos.....	72
5.3 Análisis de la multirresistencia.....	93
5.4 Detección de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico (CMI).	96
5.5 Análisis estadístico de los resultados.....	103

6. CONCLUSIONES.....	109
7. RECOMENDACIONES.....	111
8. BIBLIOGRAFÍA.....	112
9. ANEXOS.....	120
9.1 Diluciones realizadas a los antibióticos (presentación en polvo, pastilla o ampolla) para obtener concentraciones de 10.000, 1.000 y 100 µg/mL.....	120
9.2 Diluciones realizadas a los antibióticos para obtener concentraciones en un rango entre 0.0625 y 128 µg/mL.....	125
9.3 Halos de inhibición obtenidos para cada antibiótico.....	130
9.4 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de <i>Salmonella</i> spp. para cada uno de los 11 antibióticos evaluados.....	141
9.5 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas entre sí.....	146
9.6 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a los porcentajes obtenidos de cepas sensibles y cepas intermedias con el método de disco difusión con respecto al método de microdilución.....	147

ÍNDICE DE TABLAS

<u>Tabla #1:</u> Brotes de <i>Salmonella</i> en pollo.....	28
<u>Tabla #2:</u> Presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> en las 32 muestras de vísceras de pollo adquiridas en el área metropolitana de Caracas.....	69
<u>Tabla #3:</u> Número y porcentaje obtenido de cepas resistentes, intermedias y sensibles para los 11 antibióticos probados.....	73
<u>Tabla #4:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amikacina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas..	74
<u>Tabla #5:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico gentamicina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	76
<u>Tabla #6:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ampicilina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas..	77
<u>Tabla #7:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	79
<u>Tabla #8:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ceftazidime y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	80
<u>Tabla #9:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cefalotina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas..	81
<u>Tabla #10:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico tetraciclina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas	

aisladas.....	83
<u>Tabla #11:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ciprofloxacina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	84
<u>Tabla #12:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ácido nalidíxico y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	86
<u>Tabla #13:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cloranfenicol y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	89
<u>Tabla #14:</u> Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.....	90
<u>Tabla #15:</u> Patrón de resistencia e índice de multirresistencia a antibióticos obtenido en 5 de las 9 cepas aisladas.....	93
<u>Tabla #16:</u> Concentración mínima inhibitoria obtenida para cada antibiótico y para cada cepa, clasificación de la susceptibilidad y el porcentaje de cepas.....	97
<u>Tabla #17:</u> Medidas de halos de inhibición obtenidas para las 9 cepas aisladas y para la cepa pura de <i>Salmonella</i> spp., junto con la probabilidad obtenida para cada antibiótico.....	104
<u>Tabla #18:</u> Medidas de halos de inhibición obtenidas para cada antibiótico en las 9 cepas aisladas, junto con la probabilidad obtenida.....	106

Tabla #19: Porcentajes obtenidos de cepas intermedias y cepas sensibles tanto con el método de disco difusión como con el método de microdilución, junto con la probabilidad obtenida..... 107

ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Figura #1:</u> Etapa de pre-enriquecimiento para el aislamiento de <i>Salmonella</i> en pollo.....	49
<u>Figura #2:</u> Etapa de enriquecimiento selectivo para el aislamiento de <i>Salmonella</i> en pollo.....	51
<u>Figura #3:</u> Etapa de aislamiento de <i>Salmonella</i> en pollo.....	53
<u>Figura #4:</u> Esquema de pruebas bioquímicas preliminares en el aislamiento de <i>Salmonella</i> en pollo.....	54
<u>Figura #5:</u> Esquema de pruebas confirmativas y aplicación de galerías API en la identificación de <i>Salmonella</i> en pollo.....	56
<u>Figura #6:</u> Esquema de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos mediante el método de disco difusión descrito por Bauer y col., 1966.....	59
<u>Figura #7:</u> Siembra en placa de microtitulación para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico mediante el método de microdilución descrito por Andrews, 2001.....	61
<u>Figura #8:</u> Colonias características de <i>Salmonella</i> obtenidas en agar bismuto sulfito.....	63
<u>Figura #9:</u> Colonias características de <i>Salmonella</i> obtenidas en agar XLD.....	64
<u>Figura #10:</u> Colonias características de <i>Salmonella</i> obtenidas en agar Hektoen-entérico.....	64
<u>Figura #11:</u> Resultados característicos de <i>Salmonella</i> en la Prueba del Kligler.....	65
<u>Figura #12:</u> Resultados característicos de <i>Salmonella</i> en la prueba lisina-hierro.....	65
<u>Figura #13:</u> Imagen del microscopio con un aumento de 100X luego de realizar la tinción Gram.....	66

<u>Figura #14:</u> Resultados obtenidos en caldo urea con sus respectivos controles positivos y negativos.....	67
<u>Figura #15:</u> Resultados obtenidos en caldo triptófano con sus respectivos controles positivos y negativos.....	67
<u>Figura #16:</u> Porcentajes de cepas resistentes, intermedias y sensibles para cada uno de los antibióticos evaluados.....	73
<u>Figura #17:</u> Número de aislamientos multirresistentes para cada uno de los patrones de resistencia obtenidos.....	94

1. INTRODUCCIÓN

La inocuidad microbiológica de los alimentos es una preocupación de salud pública a nivel mundial (Dallal y col., 2009). Las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen uno de los problemas de salud más extendidos en el mundo y tienen implicaciones tanto a nivel individual como social. Hasta un tercio de la población de países desarrollados son afectados por enfermedades transmitidas por alimentos cada año, mientras que en países subdesarrollados el problema es aún mayor (Schlundt, 2002).

La infección alimentaria por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen cepas de este género (Jay, 2002). Los alimentos derivados de animales han estado directamente implicados en numerosos brotes de *Salmonella* a largo de los años (White y col., 2002). Entre estos alimentos, se encuentra el pollo y sus productos, los cuales son reconocidos como fuente importante de infecciones transmitidas por alimentos causadas por dicho patógeno (Camacho y col., 2010).

El uso extensivo de antibióticos en la producción de pollo ha permitido el desarrollo de cepas de *Salmonella* resistentes a los antibióticos (Camacho y col., 2010). Los antibióticos se emplean en veterinaria con fines terapéuticos, profilácticos o como promotores de crecimiento. Producto de su capacidad de adaptación, las bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia frente a los antibióticos (Pérez, 1998). Las bacterias farmacoresistentes son transmitidas al consumidor a través de la cadena alimentaria (Embid, 2009). Trabajos recientes han demostrado la posibilidad de colonización del tubo digestivo del hombre por bacterias de origen animal y la transferencia de genes de resistencia a los antibióticos desde estos microorganismos hasta las bacterias comensales

del hombre. Esto es posible ya que las bacterias patógenas han desarrollado sistemas de transferencia de ADN (Campos y Baquero, 2002). Asimismo, la flora normal es capaz de suministrar estos genes de resistencia a otros patógenos (Sørum y L'Abée, 2002).

El tratamiento de antibióticos para humanos contra campylobacteriosis, salmonelosis y yersiniosis en la mayoría de los casos no está indicado. Sin embargo, en casos graves, como enfermedades extraintestinales o infecciones en personas inmunocomprometidas, la terapia con antibióticos puede ser necesaria. No obstante, dicha terapia se puede complicar cuando se presenta resistencia antibacteriana en pacientes infectados con patógenos resistentes (Dallal y col., 2009). Las bacterias resistentes a los antibióticos, en animales destinados al consumo, ponen en peligro la eficacia de los medicamentos humanos, si los genes resistentes a los antimicrobianos se incorporan a las poblaciones de bacterias humanas (Singh y col., 2010).

En torno a esto, se hizo necesario investigar la posible resistencia a antibióticos desarrollada por patógenos que pudieran ser transmitidos por productos cárnicos a los consumidores.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's)

Las enfermedades transmitidas por alimentos son aquellas que se originan por la ingestión de alimentos y/o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales que afecten la salud del consumidor a nivel individual o grupos de población. Estas enfermedades pueden causar infección o intoxicación alimentaria (<http://www.mpps.gob.ve>).

Las infecciones alimentarias son infecciones activas resultantes de la ingestión de un alimento contaminado con un patógeno. El alimento debe tener un número suficiente de microorganismos patógenos vivos como para causar infección y enfermedad en el hospedador. No obstante, la intoxicación alimentaria es la enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos que contienen toxinas generadas por los microorganismos. La enfermedad es debida a la ingestión y acción de la toxina activa (Mandigan y col., 2006).

Las bacterias asociadas con alimentos constituyen un grupo heterogéneo cuyo hábitat se extiende a todos los nichos ecológicos donde se producen y se manipulan alimentos para consumo humano. Tales ambientes pueden ser suelos, plantas, ganadería, agua dulce y salada, peces, aves o áreas donde se manipulan alimentos como restaurantes e industrias de producción alimentaria (Sørum y L'Abée., 2002).

Se registran aproximadamente 76 millones de Enfermedades transmitidas por alimentos, 325.000 hospitalizaciones y 5000 muertes cada año en E.E.UU. Seis patógenos representan el 95% de las muertes relacionadas con alimentos, entre los cuales están *Salmonella* (31%), *Listeria* (28%), *Toxoplasma* (21%), virus Norwalk (7%),

Campylobacter (5%) y *E. coli* 0157:H7 (3%) (White y col., 2002). A partir del año 1996, Venezuela se incorporó al Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades transmitidas por Alimentos (SIRVE-ETA). De esta manera, en el año 2011, se reportaron 58 brotes asociados a ETA con un total de 1539 casos (<http://www.mpps.gob.ve>).

Aunque muchas de estas enfermedades causan una diarrea autolimitante, en casos de enfermedades invasivas severas o enfermedades prolongadas en personas inmunocomprometidas, en niños y ancianos se puede necesitar terapia con antibióticos. El desarrollo de patógenos resistentes a antibióticos transmitidos por alimentos puede comprometer el tratamiento en estos pacientes (White y col., 2002).

2.2 *Salmonella*

2.2.1 Descripción

Entre los bacilos Gram-negativos que provocan gastroenteritis alimentarias, los más importantes son los del género *Salmonella* (Jay, 2002).

Salmonella es un bacilo Gram-negativo y asporógeno, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, el cual se encuentra muy difundido en la naturaleza, siendo sus principales reservorios los animales y las personas. El género incluye más de 2400 serotipos diferentes. *Salmonella* puede colonizar y causar enfermedad en una variedad de animales destinados al consumo humano (White y col., 2002).

Salmonella es capaz de crecer en un gran número de medios de cultivo y de producir colonias perfectamente visibles en 24 horas a una temperatura de 35-37°C. Son fermentadores de glucosa y otros monosacáridos con producción de gas pero incapaces de

fermentar la lactosa, sacarosa o la salicina. El pH óptimo de crecimiento se halla en torno a la neutralidad (Jay, 2002).

La infección alimentaria por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen cepas de este género (Jay, 2002). Los alimentos derivados de animales han estado directamente implicados en numerosos brotes de *Salmonella* a lo largo de los años. Enfermedades transmitidas por alimentos causadas por *Salmonella* no Typhi representan un importante problema de salud pública a nivel mundial (Zhao y col., 2002). Sin embargo, los casos humanos se han atribuido, en su mayoría, a la infección con *Salmonella* Typhimurium, uno de los serotipos más prevalentes en los animales (White y col., 2002).

2.2.2 Clasificación

El género *Salmonella* ha tenido sucesivas modificaciones a través de los años en su nomenclatura y taxonomía. Estudios de DNA mediante técnicas de hibridación mostraron que el género *Salmonella* está constituido por 2 especies (www.cdc.gov):

- *Salmonella entérica*: dividida en 6 subespecies que se diferencian por sus características bioquímicas y genéticas, las cuales son *Salmonella entérica*, *Salmonella salamae*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, *Salmonella houtenae* y *Salmonella indica* (Uribe y Suárez, 2006).
- *Salmonella bongori*

A su vez las subespecies de *Salmonella entérica* y la especie *Salmonella bongori* se dividen en más de 2400 serovariedades, que están definidas en función de diferentes asociaciones de factores antigénicos somáticos O y flagelares H. *S. Enteritidis*, *S. Typhi* y

S. Typhimurium son en la actualidad serovariedades de *Salmonella entérica* subespecie *entérica* (Uribe y Suárez, 2006).

La mayoría de las serovariedades aisladas del hombre y de los animales de sangre caliente pertenecen a la subespecie *entérica* y llevan un nombre por lo general relacionado con el lugar geográfico donde se aisló por primera vez (www.cdc.gov).

Los antígenos somáticos (O) son cadenas laterales de polisacáridos del lipopolisacárido de envoltura (LPS) que se encuentran en todos los microorganismos Gram negativos. El flagelo es una estructura compleja que consiste en un cuerpo basal, un segmento de unión y un filamento. El cuerpo basal ancla el flagelo a la envoltura de la célula y el segmento de unión une el cuerpo basal con el filamento. En la serotipificación flagelar de *Salmonella* se usa solamente la especificidad antigénica del filamento. El filamento está constituido por flagelina, proteína de alto peso molecular. En *Salmonella* se han encontrado más de 60 especificidades antigénicas flagelares. Las diferencias antigénicas surgen debido a variaciones en la estructura primaria (contenido en aminoácidos y orden de ubicación) de las distintas moléculas de flagelina (www.cdc.gov).

Desde el punto de vista epidemiológico *Salmonella* spp. se puede clasificar en tres grupos (www.cdc.gov):

- Las que no tienen preferencia por algún huésped en especial, por lo que infectan tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentra la mayoría de las serovariedades responsables de la salmonelosis. Entre ellas se encuentra el serotipo *Salmonella Choleraesuis* que causa enfermedad severa en su principal portador, que es el cerdo, pero también puede causar enfermedad sistémica grave en humanos. Los serotipos *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium los cuales producen infecciones asintomáticas en animales, especialmente en aves domésticas.

- Las que infectan sólo al hombre: *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* Paratyphi C, las cuales se transmiten en forma directa ó indirecta de una persona a otra.
- Las que están adaptadas a un huésped en especies animales: *S. Abortusovis*, a los ovinos; *S. Abortusequi*, a los equinos y *S. Gallinarum*, a las aves.

2.2.3 Reservorio

El hábitat principal de *Salmonella* spp. es el tracto intestinal de animales tales como las aves, los reptiles, los animales de granja y las personas. Aunque su reservorio principal es el tracto intestinal, de vez en cuando se pueden encontrar en otros lugares tales como bazo, hígado, bilis, ganglios linfáticos y diafragma (Jay, 2002). Esto es posible ya que algunas cepas son capaces de atravesar el epitelio y llegar a la lámina propia intestinal, invadir a los macrófagos y como es resistente a la acción de éstos, dichas células le sirven de vehículo para invadir otros órganos, principalmente el hígado (Gutiérrez y col., 2008).

2.2.4 Modo de transmisión

La existencia frecuente de *Salmonella* en las poblaciones animales sensibles es debida, en parte, a la contaminación de los animales exentos de *Salmonella* por animales de la misma población que son portadores de estos organismos. Un portador es una persona o animal que elimina repetidas veces este patógeno, generalmente en las heces, sin presentar signos o síntomas de la enfermedad. Durante el sacrificio e inmediatamente después, es de esperar que ocurra la contaminación de las canales por materia fecal (Jay, 2002).

Como formas intestinales, los organismos son excretados en las heces, desde las cuales pueden ser transmitidos por insectos y otros seres vivos. Cuando los alimentos

contaminados por insectos o por otros medios son consumidos por personas y por otros animales, estos organismos son diseminados otra vez por la materia fecal, continuando de esta forma el ciclo (Jay, 2002).

La contaminación secundaria es otra de las fuentes importantes de *Salmonella* en las infecciones humanas. Su presencia en las carnes y huevos hace inevitable su presencia en determinados alimentos gracias a la intervención de los manipuladores y al contacto directo de los alimentos no contaminados con alimentos contaminados (contaminación cruzada). La preparación y manipulación incorrecta de los alimentos en los hogares y en los establecimientos de alimentación siguen siendo los factores principales en los brotes (Jay, 2002).

2.2.5 Salmonelosis

Después de la malaria y las infecciones respiratorias, las enfermedades causantes de diarrea son las principales causas de morbilidad y mortalidad especialmente en niños en países en desarrollo. Entre estas enfermedades, la salmonelosis es considerada como la más importante enfermedad transmitida por alimentos en estos países (Stevens y col., 2006). Dicha enfermedad es causada por la ingestión de alimentos que contienen especies o serotipos del género *Salmonella* (Jay, 2002). La salmonelosis constituye un riesgo para la salud pública y representa un alto costo económico a la sociedad de muchos países, ya que causa grandes pérdidas económicas en la industria avícola, especialmente en pollos jóvenes con alta morbilidad y mortalidad (Singh y col., 2010).

Pueden distinguirse 4 tipos clínicos de salmonelosis (Koneman y col., 1999):

- 1) Gastroenteritis: La manifestación más frecuente, que varía de diarrea leve a fulminante, acompañada por fiebre de bajo grado y variados grados de náuseas y vómitos.
- 2) Bacteriemia y septicemia: Sin síntomas gastrointestinales, caracterizada por picos de fiebre alta.
- 3) Fiebre entérica: Se manifiesta con fiebre leve y diarrea. El síndrome de fiebre entérica está asociado con *Salmonella* Typhi (fiebre tifoidea), *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Paratyphi C y *Salmonella* Paratyphi B (fiebre paratifoidea). Los tres primeros microorganismos son patógenos exclusivos del hombre y *S. Paratyphi B* se puede encontrar también en animales. Debido a que este síndrome puede causar graves complicaciones como hemorragia y perforación intestinal, estado tóxico, miocarditis, complicaciones supurativas y con menor frecuencia meningitis; es importante diagnosticar los agentes causales con certeza y rapidez.
- 4) Un estado portador: Las personas con infecciones previas pueden continuar excretando el microorganismo en sus heces hasta un año después de la remisión de los síntomas.

A partir del momento de la ingestión del alimento contaminado, los síntomas se suelen manifestar en 12-14 horas y suelen persistir durante 2-3 días.

Los niños, ancianos y personas inmunocomprometidas, son los más propensos a contraer la salmonelosis, al igual que personas con problemas de desnutrición. Datos epidemiológicos de Estados Unidos mostraron que la mayor incidencia de infecciones por *Salmonella* ha sido en niños menores de 5 años y personas mayores de 60 años (Rosentul, 2006).

Cerca de 1.4 millones de casos de salmonelosis ocurren cada año en los Estados Unidos, de los cuales 95% son transmitidos por alimentos (Zhao y col., 2002). En México, se presentó un incremento en el número de salmonelosis de 1994 a 1998 de 100.342 a 215.155 casos (Camacho y col., 2010).

En Venezuela existe una carencia de datos epidemiológicos con respecto a la salmonelosis y a la fiebre tifoidea. Esto se debe a que la gente no acude a los centros de salud pública al presentar los síntomas, y en caso de ir, esos datos no son transmitidos a los entes gubernamentales destinados a realizar registros epidemiológicos (Rosentul, 2006).

Los serotipos más representativos de *Salmonella* en el área Metropolitana de Caracas según un muestreo realizado en 1995, reportan que el 40.7% son provenientes de alimentos, específicamente de leche y huevos (Rosentul, 2006).

2.2.6 Alimentos vehículos

Una variedad de alimentos ha estado implicada como vehículo de transmisión de salmonelosis a humanos, incluyendo aves de corral, carne vacuno, carne de cerdo, mariscos, huevos, leche, queso, pescado, frutas frescas, jugos y vegetales. La ingesta de carne o vísceras mal cocidas y la contaminación cruzada con utensilios, mesas y manos de quienes preparan el alimento facilitan la transmisión de la salmonelosis (Camacho y col., 2010).

La presencia de *Salmonella* en los alimentos debe ser considerada como un problema para los servicios de salud, médicos, microbiólogos, la industria alimentaria y los consumidores (Camacho y col., 2010). En países en desarrollo, las pocas encuestas

disponibles así como la falta de vigilancia hace difícil acceder a la magnitud de esta enfermedad (Stevens y col., 2006).

2.3 Pollo

El pollo es el ave de la familia *Faisanidae*, del género Gallus de la especie domesticus (COVENIN, 1986).

El pollo para consumo corresponde al cuerpo completo del pollo después de someterlo al proceso de faena, el cual incluye insensibilización, desangrado, escaldado, desplume y evisceración (sin vísceras blancas), sin tráquea, sin buche, sin esófago, sin pulmones, sin bazo, sin plumas y sin patas. El mismo puede incluir ciertas vísceras rojas como hígado, corazón y molleja (COVENIN, 1986).

En Venezuela, hay una disponibilidad alimentaria de la carne de pollo de 71.2 g/persona/día lo cual aporta 130 calorías, siendo una fuente de proteínas y grasa para la población venezolana (<http://www.inn.gob.ve>).

Las aves representan uno de los reservorios más importantes de *Salmonella* que pueden ser transmitidas a través de la cadena alimenticia hacia el hombre causando en éstos, diferentes cuadros clínicos de salmonelosis. El aislamiento de *Salmonella*, tanto de aves como de productos avícolas se reporta con más frecuencia que en cualquier otra especie animal o producto alimenticio, reflejando la gran prevalencia de infecciones por *Salmonella* en aves (Boscán y col., 2005). La proliferación de *Salmonella* en los productos avícolas se debe al suministro de piensos contaminados a las aves de corral, así como a la infraestructura de los corrales, que expone a aves sanas al contacto con animales que pueden estar contaminados, tales como: roedores, insectos y especies de aves silvestres (Rosentul, 2006).

Las aves portadoras de *Salmonella* constituyen una fuente de contaminación y las operaciones de sacrificio y evisceración contribuyen a aumentar la frecuencia en el producto final (Morillo y col., 1996).

El grado de contaminación de las canales de pollo debe ser reducido durante el procesamiento y se debe lograr que lleguen a la venta libre de patógenos para garantizar la seguridad alimentaria. Sin embargo, el pollo y sus productos son reconocidos como fuente importante de infecciones transmitidas por alimentos causadas por *Salmonella* (Camacho y col., 2010).

Los huevos pueden estar contaminados debido a una transmisión transovárica del agente infeccioso al interior del huevo antes de la deposición de la cáscara y también a su penetración a través de la cáscara cuando el huevo, ya producido, entra en contacto con las heces (Rosentul, 2006).

2.3.1 *Salmonella* en pollo

Estudios:

En Venezuela, se han reportado aislamientos de *Salmonella* en este alimento en varios estados, a continuación se mencionan alguno de los casos reportados:

- ✓ Infante y col. reportaron en el año 1994 una prevalencia de 32,5% en canales de pollo en el Estado Aragua.
- ✓ León y col. reportaron en el año 1996 una prevalencia de 58% en canales de pollo en el Estado Aragua.
- ✓ Morillo y col. reportaron en el año 1996 una prevalencia de 72,5% en alas y vísceras de pollo adquiridas en el Estado Aragua.

- ✓ Pérez y col. reportaron en el año 2004 una prevalencia de 23,08% en canales de aves beneficiadas de plantas procesadoras ubicadas en el Estado Zulia.
- ✓ Boscán y col. reportaron en el año 2005 una prevalencia de 23% en vísceras de pollo adquiridas en plantas procesadoras ubicadas en el Estado Zulia.
- ✓ Molina y col. reportaron en el año 2010 una prevalencia de 20% en pollo crudo comercializado en el Estado Mérida.

En otros países también se han reportado aislamientos de *Salmonella* en pollo, a continuación se mencionan algunos de los casos reportados:

- ✓ White y col. reportaron en el año 2001 una prevalencia de 35% en muestras de pollo adquiridas en supermercados de Washington, EE.UU.
- ✓ Antunes y col. reportaron en el año 2003 una prevalencia de 60% en muestras de pollo y pavo adquiridas en carnicerías en Portugal.
- ✓ Reuben y col. reportaron en el año 2003 una prevalencia de 15% en muestras de vísceras de pollo adquiridas en el área metropolitana de Costa Rica.
- ✓ Duarte y col. reportaron en el año 2009 una prevalencia de 9.6% en canales de pollo de plantas procesadoras ubicadas en Brasil.
- ✓ Dallal y col. reportaron en el año 2010 una prevalencia de 45% en muestras de pollo y res adquiridas en mercados ubicados en Irán.
- ✓ Camacho y col. reportaron en el año 2010 una prevalencia de 100% en muestras de vísceras de pollo adquiridas en supermercados en México.
- ✓ Shrestha y col. reportaron en el año 2010 una prevalencia de 75% en granjas ubicadas en Nepal.

- ✓ Singh y col. reportaron en el año 2010 una prevalencia de 4.8% en muestras de huevos recolectados en granjas y mercados en la India.
- ✓ Yildirim y col. reportaron en el año 2011 una prevalencia de 34% en muestras de canales de pollo en Turquía.
- ✓ Schwaiger y col. reportaron en el año 2012 una prevalencia de 17% en muestras de pollo y carne de cerdo de mataderos y mercados ubicados en Alemania.

Brotos:

Se han presentado distintos brotes de *Salmonella* en pollo y productos derivados. A continuación se mencionan algunos de ellos:

Tabla #1: Brotos de *Salmonella* en pollo

Año	País	Vehículo	Serovariedad	N°	
				Personas afectadas	Decesos
1976	España	Ensalada de huevo	<i>S. Typhimurium</i>	702	6
1984	Francia, Inglaterra	Paté de hígado	<i>S. Goldcoast</i>	756	0
1986	Estados Unidos	Pollo	<i>S. Heidelberg</i> <i>S. Stanley</i>	202	0
1987	República de China	Bebida de huevo	<i>S. Typhimurium</i>	1.113	NS ¹
1988	Japón	Huevos duros	<i>Salmonella</i> spp.	10.476	NS
1996	Estados Unidos	Pollo	<i>Salmonella</i> spp.	66	0
2005	España	Pollo precocido	<i>Salmonella</i> spp. <i>Salmonella entérica</i>	2.883	14
2007	Estados Unidos	Pollo vivo	<i>S. Montevideo</i>	65	0
2008	Canadá	Pollo	<i>Salmonella</i> spp.	1.442	2

¹NS: No especificado

Fuente: Rosentul, 2006., www.cdc.gov

2.4 Antibióticos

Los antibióticos son compuestos químicos que matan a las bacterias o impiden su reproducción. En el siglo XX el descubrimiento de los antibióticos se convirtió en la solución a las múltiples enfermedades producidas por agentes infecciosos (Cabrera y col., 2007). Al actuar sólo sobre los organismos procariotas tienen una escasa o nula acción nociva sobre las células eucariotas, una baja toxicidad para el hombre y limitados efectos secundarios, salvo las reacciones alérgicas (Pastor, 2006). Para conseguir destruir o inhibir a los microorganismos, los antibióticos deben atravesar la barrera superficial de la bacteria y después fijarse sobre su diana (Pérez, 1998).

2.4.1 Clasificación

- Aminoglucósidos

Se incluyen en este grupo la estreptomicina, neomicina, amikacina, gentamicina, kanamicina y otros. Los aminoglucósidos constituyen un importante grupo de antibióticos que por su espectro antibacteriano y su acción bactericida tienen gran utilidad en el tratamiento de infecciones graves causadas por microorganismos Gram negativos. Los aminoglucósidos tienen en común un anillo aminociclitol, al cual se unen diversos aminoazúcares. La principal actividad de los aminoglucósidos ocurre sobre las bacterias aerobias Gram negativas, especialmente las enterobacterias, como: *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia*, etc. Estos fármacos son inactivos contra todas las bacterias aerobias Gram positivas (Mensa y col., 1997).

La estreptomicina es utilizada para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en pollos de engorde (Camacho y col., 2010).

- Betalactámicos

Dentro de este grupo se encuentran la penicilina, el carbapenem, los monobactámicos y las cefalosporinas. La presencia de un anillo betalactámico define químicamente a este grupo de antibióticos (Marín y Gudiol, 2003). En EE.UU, los antibióticos ampicilina, amoxicilina y algunas cefalosporinas son utilizados para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en pollos de engorde (Camacho y col., 2010).

Las cefalosporinas son de amplio espectro, actúan sobre algunas bacterias Gram positivas y contra bacterias Gram negativas (Seijas, 1981).

- Tetraciclinas

Forman parte de este grupo la clortetraciclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina y tetraciclina. El primero de estos antibióticos, la clortetraciclina se introdujo en clínica en 1948. A partir de esta fecha, se han generado los otros compuestos del grupo. Todos poseen una estructura molecular semejante (4 anillos de benceno) y un espectro antimicrobiano similar (Mensa y col., 1997). Las tetraciclinas son eficaces contra una gran variedad de microorganismos Gram positivos y Gram negativos (Seijas, 1981).

Estos antibióticos son el grupo más ampliamente utilizado en la medicina veterinaria, lo que ejerce una presión de selección hacia las resistencias de las bacterias a este tipo de antibióticos (Ruíz y col., 2006).

- Quinolonas

Este grupo lo integran la ciprofloxacina, enoxacina, norfloxacina, ácido nalidíxico y otros. Las fluoroquinolonas son análogos sintéticos del ácido nalidíxico. Las

modificaciones estructurales del ácido nalidíxico fueron diseñadas para una mejor resistencia y para incrementar su actividad antimicrobiana al máximo. El átomo de fluoruro aumenta la actividad contra los microorganismos Gram positivos (González y col., 2001).

Las fluoroquinolonas son altamente eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multirresistentes en humanos y son frecuentemente utilizadas para tratamientos de infecciones causadas por *Salmonella*. La enrofloxacin y la sarafloxacin están autorizadas en EE.UU para su administración a través del agua de bebida, en la producción intensiva de aves (Briceño y col., 2007).

Generalmente, las fluoroquinolonas usadas para el tratamiento de infecciones en animales domésticos son diferentes a las fluoroquinolonas disponibles para uso clínico humano; sin embargo, la resistencia a una fluoroquinolona generalmente produce la resistencia a todas las fluoroquinolonas (Briceño y col., 2007).

En México, la venta de antibióticos del grupo de las quinolonas para la crianza de pollos se incrementó de 86 millones de litros en 1993 a 326 millones de litros en 1997, es decir, en 4 años se triplicó el consumo de este antibiótico en este país (Camacho y col., 2010).

La ciprofloxacina y otras fluoroquinolonas son los antibióticos de primera línea para el tratamiento de las infecciones causadas por *Salmonella* no Typhi en pacientes adultos. El surgimiento de cepas resistentes produciría disminución de la efectividad de estos antibióticos en los pacientes (Camacho y col., 2010).

- Anfenicoles

Se incluyen en este grupo el cloranfenicol y el tianfenicol. El cloranfenicol fue el primer antibiótico de amplio espectro que se descubrió. Es utilizado en el tratamiento de

infecciones causadas por *Haemophilus influenzae* tipo b, en fiebre tifoidea e infecciones por anaerobios (González y Saltigeral, 2001). Estos antibióticos no son utilizados en la terapia de las enfermedades infecciosas de las aves (Ruíz y col., 2006). Este grupo ha sido prohibido en animales para consumo humano; sin embargo, recientemente varios laboratorios de control en países desarrollados han detectado residuos de dicho antibiótico en alimentos de origen animal procedentes de Sudamérica. En Venezuela, la prohibición existe desde 1988, pero recientemente se han detectado residuos de este fármaco en hígado y riñón de bovinos, y en leche de larga duración para consumo humano, por lo que se sospecha que se está comercializando en forma ilegal (Briceño y col., 2010).

Es alarmante encontrar resistencia contra el cloranfenicol, ya que es utilizado con restricciones, debido a que puede causar aplasia medular. El cloranfenicol no es adicionado al alimento animal y tampoco es utilizado como tratamiento terapéutico común. El hecho de que cepas de *Salmonella* muestren resistencia a antibióticos que no han sido utilizados en granjas podría ser indicativo de que otros factores, como la transferencia genética u otras fuentes de contaminación e infección por *Salmonella* que entran en contacto con las aves o alimentos, pueden estar jugando un rol importante en la evolución de cepas de *Salmonella* hacia la resistencia y multiresistencia frente a diversos antibióticos (Briceño y col., 2007).

- Glucopéptidos

Este grupo incluye la teicoplanina y la vancomicina. Los glucopéptidos son moléculas de estructura compleja que contienen un heptapéptido como estructura central (Pigrau, 2003).

- Macrólidos y lincosamidas

Se incluyen en este grupo la eritromicina, clindamicina y lincomicina. Los macrólidos están constituidos por un anillo lactónico macrocíclico en cuya cadena lateral se agregan carbohidratos variados y complejos. Las lincosamidas resultan de la unión de un aminoácido y un carbohidrato aminado. Estos 2 antibióticos se colocan en el mismo grupo por tener actividad antibacteriana similar (González y col., 2001).

- Otros

Se incluye la trimetoprima-sulfametoxazol. Este antibiótico es una combinación de trimetoprima y sulfametoxazol en una proporción 1:5. Estos dos compuestos juntos ejercen una acción sinérgica que es específica para la célula bacteriana (Wolff y col., 2009).

2.4.2 Modo de acción (Mensa y col., 1997).

- Aminoglucósidos

Se unen a las subunidades 30S y 50S del ribosoma e inhiben la síntesis proteica de la bacteria.

- Betalactámicos

Disminuyen la síntesis de peptidoglicano y la bacteria muere, por efecto osmótico o digerida por enzimas autolíticas.

- Tetraciclinas

Se acumulan de forma activa en la bacteria y, tras unirse a la subunidad 30S del ribosoma, interfieren con la síntesis proteica. En general se comportan como bacterioestáticos, inhibiendo solamente aquellos microorganismos en multiplicación.

- Quinolonas

El mecanismo primario de acción de las quinolonas es la inhibición de la enzima DNA girasa, la cual es necesaria para mantener la conformación helicoidal del ácido desoxirribonucleico dentro de la célula bacteriana.

- Anfenicoles

Inhiben la síntesis proteica bacteriana al fijarse a una proteína de la subunidad ribosómica 50S. Esta proteína es un componente esencial de la enzima que cataliza la reacción de transpeptidación, y que al ser bloqueada, detiene la síntesis o el alargamiento de las cadenas polipeptídicas.

- Glucopéptidos

Inhiben la síntesis de peptidoglicano actuando en un paso metabólico diferente y previo al de los betalactámicos. Alteran, además, la permeabilidad de la membrana citoplasmática e inhiben la síntesis de RNA.

- Macrólidos y lincosamidas

Los macrólidos se unen a la porción 50S del ribosoma e inhiben la síntesis proteica. Pueden comportarse como bacteriostáticos o bactericidas. Las lincosamidas pueden bloquear la producción de toxinas bacterianas o componentes de la pared celular que confieren virulencia a la bacteria.

- Otros

El antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol disminuye la síntesis de ácido nucleico por inhibición de dos enzimas en la vía de la síntesis bacteriana del ácido tetrahidrofólico.

2.4.3 Uso en animales

Desde los años 50, los antibióticos son utilizados como aditivos alimentarios en la ganadería para promover el crecimiento de los animales y tratar o prevenir ciertas enfermedades (Embid, 2009). En la cría de pollos se utilizan los antibióticos con fines terapéuticos, profilácticos y como promotores de crecimiento (Camacho y col., 2010).

Los ganaderos, las industrias farmacéuticas y de producción de piensos, veterinarios, médicos y científicos, en general, tienen opiniones diferentes respecto a la conveniencia o no del empleo de antibióticos como promotores de crecimiento. Los antibióticos con fines terapéuticos y profilácticos deben ser suministrados bajo el control de un veterinario y la normativa vigente exige la prescripción de la receta veterinaria. El uso de los antibióticos como promotores del crecimiento no requiere el uso de la receta veterinaria, ya que son considerados aditivos del pienso, y existe una lista positiva de antibióticos autorizados en función de la especie animal (Torres y Zarazaga, 2002).

Desde la década de los cincuenta, la adición de antibióticos en pequeñas dosis al pienso de los animales ha venido siendo una práctica habitual para mejorar las producciones. Los antibióticos como promotores de crecimiento se han empleado a dosis subterapéuticas durante largos períodos de la vida del animal, produciendo una ganancia de peso estimada alrededor del 5%. Los antibióticos actúan modificando la flora microbiana intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades y reduciendo la flora normal que compite con el huésped por los nutrientes. Todo ello conduce a una mejora en la productividad y reduce la mortalidad de los animales (Torres y Zarazaga, 2002).

En Estados Unidos, 40% de la producción de antibióticos se usa en alimentos para ganado. Por el contrario, Suecia y Dinamarca han prohibido el uso de antibióticos como promotores del crecimiento (Campos y Baquero, 2002).

En Venezuela, específicamente en el Estado Zulia, se ha reportado un uso extendido de antibióticos en las explotaciones avícolas, práctica que se ha extendido durante muchos años con fines profilácticos o para tratamiento de enfermedades (Briceño y col., 2007).

2.4.4 Resistencia

La sociedad se enfrenta a uno de los problemas de salud pública más graves: la aparición de bacterias patógenas que muestran resistencia a muchos antibióticos, y en algunos casos a la totalidad de ellos (White y col., 2002). Las bacterias resistentes emergieron poco después que los antibióticos fueron utilizados por primera vez en medicina veterinaria y humana en 1940 (Salisbury y col., 2002).

Las bacterias como todos los seres vivos exhiben mecanismos biológicos que las facultan para adecuarse a diversas presiones ambientales (Cabrera y col., 2007). El incremento en el uso de antibióticos en la ganadería ha creado una enorme presión en la selección de resistencia antimicrobiana entre patógenos y microflora endógena (Carramiñana y col., 2004).

Estas bacterias farmacorresistentes pueden ser transmitidas al consumidor a través de la cadena alimentaria y corren el riesgo de provocar enfermedades o de transferir genes de resistencia a microorganismos patógenos humanos o a las bacterias comensales del hombre (Embid, 2009). Bacterias resistentes a antibióticos en animales destinados al consumo humano amenazan la eficiencia de antibióticos aplicados en humanos, si los genes

de resistencia se incorporan en dichas poblaciones bacterianas humanas (Singh y col., 2010).

En un estudio realizado en España en 1998, cepas de *Salmonella* aisladas de personas y de alimentos presentaron patrones de resistencia similares. El nivel comparable y el perfil de resistencia de la *Salmonella* proveniente de personas y de alimentos confirma que los mismos pueden ser un importante vehículo para la salmonelosis en humanos (Sørum y L'Abée, 2002).

Otro reciente estudio de 7 años en España reveló un incremento de 8 a 44% de la resistencia a la ampicilina en cepas de *Salmonella*, un incremento de 1 a 42% de la resistencia a tetraciclina, un incremento de 1.7% a 26% al cloranfenicol y un incremento de 0.1% a 11% al ácido nalidíxico. En EE.UU, la resistencia a tetraciclina en especies de *Salmonella* incrementó de 9% en 1980 a 24% en 1990 y la resistencia a ampicilina aumentó de 10 a 14% (White y col., 2002).

2.4.5 Adquisición de la resistencia

La resistencia a antibióticos puede ser intrínseca o adquirida. La resistencia intrínseca o natural a un antibiótico particular o a un grupo de antibióticos está muy generalizada entre las bacterias, esto refleja la adaptación evolutiva de las bacterias a toxinas naturales en su ambiente (Salisbury y col., 2002).

La resistencia adquirida puede surgir por mutaciones (cambios al azar en los cromosomas de una célula bacteriana) o por la adquisición de genes a través de plásmidos, transposones o integrones. Los plásmidos son fragmentos de ADN bacteriano extracromosómico. Los transposones son secuencias de ADN doble cadena que pueden ser

translocados entre cromosomas. Los integrones son segmentos especializados de ADN que contienen resistencia en determinados paquetes llamados casetes (Salisbury y col., 2002). La adquisición de resistencia puede ocurrir por (Cabrera y col., 2007; Salisbury y col., 2002):

- Conjugación: transferencia de material genético contenido en plásmidos de una bacteria a otra.
- Transposición: movimiento de transposones de un lugar del ADN a otro.
- Transducción: Introducción de genes resistentes por un bacteriófago.
- Transformación: Transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma.

2.4.6 Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia adquirida y transmisible consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana o en la alteración del propio punto diana. Una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o varios antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas (Pérez, 1998). A continuación se muestran los mecanismos para cada grupo de antibiótico:

- Aminoglucósidos: La resistencia es causada principalmente por enzimas que modifican químicamente la molécula aminoglucósida (Sørum y L'Abée, 2002).

- Betalactámicos: La resistencia es causada principalmente por la producción de enzimas llamadas betalactamasas, las cuales hidrolizan el antibiótico (Pérez, 1998).
- Tetraciclinas: La resistencia es causada por bombas en la membrana interna de la célula de bacterias Gram negativas las cuales reducen el nivel de tetraciclinas dentro del citoplasma (Sørum y L'Abée, 2002).
- Quinolonas: La resistencia está relacionada con la diana principal de acción del antibiótico, con modificaciones enzimáticas en la topoisomerasa II y con mecanismos de expulsión que impiden alcanzar suficientes concentraciones intracelulares del antibiótico (Pérez, 1998).
- Anfenicoles: La modificación del antibiótico por enzimas es el mecanismo de resistencia principal (Pérez, 1998).
- Glucopéptidos: La resistencia es causada por incapacidad del antibiótico de atravesar la membrana externa y por lo tanto de llegar al punto diana (Pérez, 1998).
- Macrólidos y lincosamidas: Este grupo de antibióticos por ser hidrofóbicos atraviesan mal la membrana externa por lo que los bacilos Gram negativos presentan resistencia natural (Pérez, 1998).

2.4.7 *Salmonella* resistente en pollo

El uso extensivo de antibióticos en la producción de pollo ha permitido el desarrollo de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a los antibióticos, las cuales representan un problema de salud pública mundial (Camacho y col., 2010). La Organización Mundial de la Salud ha señalado un alarmante incremento de la incidencia de cepas de *Salmonella*

resistentes a los antibióticos debido a la utilización de los mismos en la ganadería (Embid, 2009).

A continuación se presentan los porcentajes de resistencia obtenidos por algunos investigadores. Sólo se hará referencia a los antibióticos utilizados en este estudio:

✓ Sandoval y col. reportaron en el año 1995 resistencia a los antibióticos ácido nalidíxico (54.9%), tetraciclina (54.9%), ampicilina (46.5%), trimetoprima-sulfametoxazol (8.5%), amikacina (7.1%) y gentamicina (2.8%) en cepas de *S. Gallinarum* aisladas de pollos de engorde, ponedoras y reproductores del Estado Aragua, Vzla.

✓ White y col. reportaron en el año 2001 resistencia a los antibióticos tetraciclina (100%), ampicilina (15%), cloranfenicol (15%), amoxicilina-ácido clavulánico (10%), cefalotina (10%), gentamicina (10%) y trimetoprima-sulfametoxazol (5%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos amikacina, ácido nalidíxico y ciprofloxacina en cepas aisladas de muestras de pollo adquiridas en supermercados en Washinton, EE.UU.

✓ Antunes y col. reportaron en el año 2003 resistencia a los antibióticos ácido nalidíxico (50%), tetraciclina (36%), cloranfenicol (3%), trimetoprima-sulfametoxazol (3%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, cefalotina, ceftazidime, gentamicina y ciprofloxacina en cepas aisladas de pollo y pavo adquiridos en carnicerías en Portugal.

✓ Carramiñana y col. reportaron en el año 2004 resistencia a los antibióticos tetraciclina (21.8%), cefalotina (6%), ácido nalidíxico (3%), amoxicilina-ácido clavulánico (1.5%) y gentamicina (0.7%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos cloranfenicol, ampicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, y ciprofloxacina en cepas de *Salmonella* aisladas de un matadero de aves de corral en España.

✓ Ruíz y col. reportaron en el año 2006 resistencia al antibiótico tetraciclina (3.3%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos cloranfenicol, ampicilina, ceftazidime, cefalotina, ciprofloxacina, gentamicina, amikacina y trimetoprima-sulfametoxazol en cepas aisladas en granjas de aves ponedoras en Antioquía, Colombia.

✓ Briceño y col. reportaron en el año 2007 resistencia a los antibióticos ácido nalidíxico (73.3%), tetraciclina (56.2%), ciprofloxacina (2.7%), y cloranfenicol (2.5%) en cepas aisladas de una planta procesadora de aves ubicada en el Estado Zulia, Vzla.

✓ Duarte y col. reportaron en el año 2009 resistencia a los antibióticos tetraciclina (31.6%), ácido nalidíxico (21%), ampicilina (10.5%), amoxicilina-ácido clavulánico (10.5%), cloranfenicol (5.2%), ciprofloxacina (5.2%) y trimetoprima-sulfametoxazol (5.2%). No obtuvieron resistencia frente al antibiótico gentamicina en cepas aisladas de canales de pollo de plantas procesadoras ubicadas en Brasil.

✓ Camacho y col. reportaron en el año 2010 resistencia a los antibióticos cefalotina (41%), amoxicilina-ácido clavulánico (38%), ampicilina (26%), tetraciclina (12%) y ciprofloxacina (2%) en *Salmonella* no Typhi aislada de vísceras de pollo en México.

✓ Mantilla y col. reportaron en el año 2010 resistencia a los antibióticos tetraciclina (90%), amikacina (30%), ciprofloxacina (30%), gentamicina (20%) y cloranfenicol (5%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos ampicilina y trimetoprima-sulfametoxazol en cepas aisladas de aves ponedoras comerciales en Colombia.

✓ Molina y col. reportaron en el año 2010 resistencia a los antibióticos trimetoprima-sulfametoxazol (100%), ampicilina (66.67%), ceftazidime (44.44%), ciprofloxacina (22.22%) y cloranfenicol (11.11%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos amikacina y gentamicina en cepas aisladas de pollo crudo comercializado en el Estado Mérida, Vzla.

✓ Shrestha y col. reportaron en el año 2010 la mayor resistencia a los antibióticos ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y ácido nalidíxico (97.4%), a la cefalotina (94.9%), tetraciclina (92.3%), cloranfenicol (15.4%), ciprofloxacina (7.7%) y trimetoprima-sulfametoxazol (69.2%). No obtuvieron resistencia frente a gentamicina en cepas aisladas de granjas ubicadas en Kathmandu, Nepal.

✓ Singh y col. reportaron en el año 2010 resistencia a los antibióticos ampicilina (26%), gentamicina (40.74%) y cloranfenicol (15%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos ciprofloxacina y tetraciclina en cepas aisladas de huevos recolectados en granjas y mercados ubicados en la India.

✓ Dallal y col. reportaron en el año 2010 resistencia a los antibióticos ácido nalidíxico (82%), tetraciclina (69%), ampicilina (4%) y cloranfenicol (1.6%). No obtuvieron resistencia frente a los antibióticos gentamicina, ceftazidime y ciprofloxacina en cepas aisladas de pollo y res adquiridos en mercados en Irán.

✓ Yildirim y col. reportaron en el año 2011 resistencia a los antibióticos ampicilina (85.2%), tetraciclina (67.6%), cefalotina (52.9%), gentamicina (14.7%), cloranfenicol (10.2%) y amikacina (2.9%) en cepas aisladas de canales de pollo en Turquía.

2.4.8 Multiresistencia

Una cepa aislada se define como resistente si presenta resistencia a un antibiótico, sin en cambio presenta un índice de multiresistencia mayor a 0.2 se está en presencia de una cepa multiresistente (Carramiñana y col., 2004).

En los últimos años se han detectado cepas de *Salmonella* spp. multiresistentes a los antibióticos (Camacho y col., 2010). La aparición de multiresistencia en *Salmonella*

aislada de alimentos, sugiere la necesidad de un uso más prudente de los antibióticos por parte de agricultores, veterinarios y médicos (Carramiñana y col., 2004).

A continuación se presentan los porcentajes de cepas multirresistentes obtenidos por algunos investigadores:

- ✓ Carramiñana y col. reportaron en el año 2004 un 65.4% de aislamientos multirresistentes en cepas aisladas de un matadero de aves de corral en España.
- ✓ Briceño y col. reportaron en el año 2007 un 65% de aislamientos multirresistentes en cepas aisladas de una planta procesadora de aves ubicada en el Estado Zulia, Vzla.
- ✓ Camacho y col. reportaron en el año 2010 un 17,1% de aislamientos multirresistentes a 4 antibióticos en vísceras de pollo adquiridas en supermercados ubicados en México.
- ✓ Dallal y col. reportaron en el año 2010 un 68.5% de aislamientos multirresistentes y un 15% fueron resistentes a todos los antibióticos en cepas aisladas de muestras de pollo y res adquiridos en mercados ubicados en Irán.
- ✓ Shrestha y col. reportaron en el año 2010 un 97% de cepas multirresistentes en cepas aisladas de granjas en Nepal.
- ✓ Yildirim y col. reportaron en el año 2011 un 97% de cepas multirresistentes en cepas aisladas de canales de pollo en Turquía.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Aislar e identificar cepas de *Salmonella* resistente a antibióticos en muestras de pollo recolectadas en expendios comerciales del área metropolitana.

3.2 Objetivos específicos

- Aislar cepas de *Salmonella* en muestras de pollo recolectadas en expendios comerciales.
- Identificar las cepas presuntivas de *Salmonella* aisladas a través de pruebas bioquímicas preliminares y confirmativas.
- Identificar las cepas presuntivas de *Salmonella* aisladas a través de las galerías API 20E.
- Detectar cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos a través del método de disco difusión.
- Detectar cepas de *Salmonella* multirresistentes a antibióticos.
- Detectar la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico evaluado a través del método de microdilución.
- Comparar los resultados obtenidos entre el método de disco difusión y el método de microdilución.
- Evaluar la resistencia y multirresistencia a antibióticos en un cultivo puro de *Salmonella*.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Lugar de trabajo

Se trabajó en el laboratorio de microorganismos patógenos de la sección de biotecnología y control microbiano, ubicado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Central de Venezuela (UCV), el cual se encuentra ubicado en Colinas de Bello Monte, Caracas-Venezuela. En este lugar se suministraron los materiales, equipos, reactivos y medios de cultivo que se utilizaron en la elaboración de este trabajo especial de grado.

4.2 Muestreo

Se analizaron 4 muestras de vísceras de pollo por semana durante un período de 8 semanas, las cuales fueron adquiridas en expendios comerciales ubicados en el área metropolitana y fueron transportadas al ICTA en forma aséptica para su posterior evaluación.

4.3 Materiales y equipos

Equipos:

- Autoclave
- Balanza analítica
- Estufa a 35-37°C
- Baño con agitación a 42°C
- Microscopio
- Stomacher
- Lector de placas Biorad modelo 3550

- Vórtex

Materiales:

- Aceite de inmersión
- Asa de platino
- Bolsas de polietileno estériles
- Galerías API 20E
- Hisopos estériles
- Mechero
- Micropipetas
- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Puntas para micropipetas
- Placas de Petri
- Porta-objetos
- Reactivos para la coloración de Gram (solución de cristal violeta, lugol, solución decolorante y safranina)
- Solución salina
- Tubos de ensayo

Medios de cultivo:

- Agar bismuto sulfito
- Agar Hektoen-entérico
- Agar Kligler
- Agar lisina-hierro

- Agar Müeller Hinton
- Agar tripticasa soya
- Agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD)
- Caldo Müeller Hinton
- Caldo Rappaport-Vassiliadis
- Caldo selenito-cistina
- Caldo tetrionato-verde brillante
- Caldo tripticasa soya
- Caldo urea
- Peptona

Tipo de muestra

- Muestras de vísceras de pollo adquiridas en diferentes expendios comerciales.

Cepas

- Cepa de *Salmonella* spp. suministrada por la Facultad de Farmacia.
- Cepa de *Escherichia coli* (ATCC 25922) adquirida en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos ubicado en el Instituto de Biología Experimental (IBE).

Discos de antibióticos (BBL, adquiridos en Himelab)

- Amikacina 30 µg
- Gentamicina 10 µg

- Ampicilina 10 µg
- Amoxicilina-ácido clavulánico 20/10 µg
- Ceftazidime 30 µg
- Cefalotina 30 µg
- Tetraciclina 30 µg
- Ciprofloxacina 5 µg
- Ácido nalidíxico 30 µg
- Cloranfenicol 30 µg
- Trimetoprima-sulfametoxazol 1.25/23.75 µg

Antibióticos en suspensión, pastilla o ampollas (adquiridos en farmacias)

- Amikacina: Medicamento genérico en ampolla (Genven)
- Gentamicina: Medicamento genérico en ampolla (Genven)
- Ampicilina: Medicamento genérico en suspensión (Calox)
- Amoxicilina-ácido clavulánico: Medicamento genérico en suspensión (Genven)
- Ceftazidime: Medicamento genérico en ampolla (Genérico de calidad)
- Cefalotina: Medicamento genérico en ampolla (Genven)
- Tetraciclina: Tetralysal en cápsulas (Galderma)
- Ciprofloxacina: Ciprolet en suspensión (Dr.Reddy's)
- Cloranfenicol: Cloftal en solución oftálmica (Oftalmi)
- Trimetoprima-sulfametoxazol: Bactrimel en suspensión (Roche)

4.4 Métodos

El aislamiento e identificación del patógeno se realizó según la norma COVENIN 1291:2004, la cual establece lo siguiente:

4.4.1 Aislamiento de *Salmonella* en muestras de pollo

➤ Pre-enriquecimiento

Se pesaron 25g de muestra del alimento en una bolsa de polietileno, se agregaron 225mL del medio de pre-enriquecimiento (caldo nutritivo) y se homogenizaron en el Stomacher por unos segundos. Se dejó en reposo la muestra durante 60 minutos a temperatura ambiente y luego se incubó la muestra pre-enriquecida a 35°C por 24h. El pre-enriquecimiento es importante para recuperar las células de *Salmonella* de las condiciones extremas en las que se encontraba en el alimento, ya que se encuentra bajo condiciones de estrés en alimentos contaminados (Rosentul, 2006).

A continuación se muestra el esquema realizado:

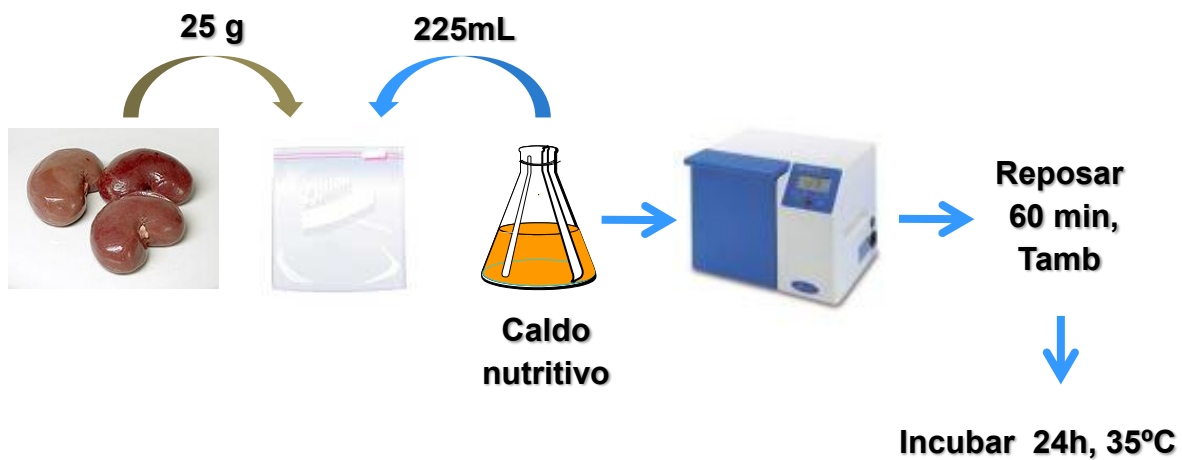


Figura #1: Etapa de pre-enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella* en pollo.

➤ Enriquecimiento selectivo

Luego del período de incubación, se transfirió 0,1 mL del medio de pre-enriquecimiento a 10mL de caldo Rappaport-Vassiliadis y 1 mL a 10 mL de caldo tetrionato-verde brillante, ambos tubos se agitaron en un vórtex y se incubaron en un baño con agitación a 42°C por 24h.

Los microorganismos del género *Salmonella* se encuentran en una pequeña proporción con respecto a la flora acompañante en los alimentos contaminados, lo cual dificulta su detección. Por lo tanto, este enriquecimiento selectivo permite que *Salmonella* crezca en mayor proporción que las demás bacterias (Rosentul, 2006).

En el caldo Rappaport-Vassiliadis, la elevada concentración de cloruro de magnesio y la presencia de verde de malaquita inhiben el crecimiento de microorganismos que forman parte de la flora intestinal, mientras que la mayoría de las cepas de *Salmonella* no se ven afectadas en su desarrollo (Cultimed, 2003).

En el caldo tetrionato-verde brillante, las sales biliares y el verde brillante inhiben el crecimiento de microorganismos Gram-positivos. El tetrionato tiene un efecto inhibitor sobre los coliformes y la mayor parte de las bacterias intestinales. Las cepas de *Proteus* y de *Salmonella* pueden desarrollarse correctamente. El carbonato de calcio mantiene el pH del medio al neutralizar el ácido sulfúrico producido por la reducción del tetrionato (Cultimed, 2003).

A continuación se muestra el esquema realizado:

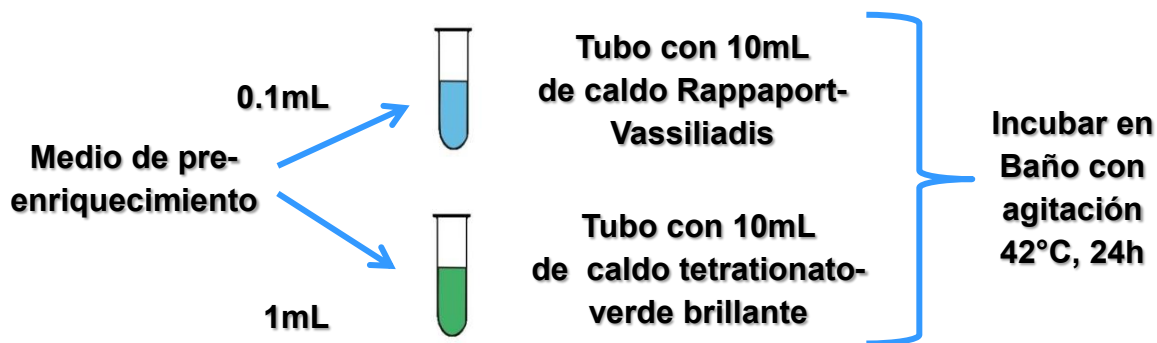


Figura #2: Etapa de enriquecimiento selectivo para el aislamiento de *Salmonella* en pollo.

➤ Aislamiento

Se transfirió una asada de cada uno de los dos medios de enriquecimiento selectivo, previamente homogeneizados en un vórtex, a la superficie de placas de agar bismuto sulfito, agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD) y agar Hektoen-entérico. Las placas se incubaron invertidas a 35°C por 24h. Al final de la incubación se observaron las colonias presuntivas de *Salmonella* cuyas características en el agar bismuto sulfito son colonias marrones o grises a negro, con o sin brillo metálico, en el agar XLD son colonias incoloras o ligeramente rosadas con o sin centro negro y en el agar Hektoen-entérico son colonias azul verdosas o azules con o sin centro negro.

En el agar bismuto sulfito, el bismuto sulfito y el verde brillante inhiben conjuntamente a las bacterias Gram-positivas y coliformes. A su vez por la presencia de azufre en el medio, los microorganismos capaces de producir sulfuro de hierro precipitan sulfuro ferroso, que da lugar a tonalidades marrones más o menos oscuras e incluso negras.

También se puede reducir el bismuto a metal dando un brillo metálico alrededor de las colonias correspondientes (Cultimed, 2003).

En el agar XLD, el desoxicolato de sodio inhibe el crecimiento de los Gram-positivos. La mayoría de las enterobacterias patógenas, a excepción de *Shigella*, fermentan la xilosa. El ácido producto de la fermentación de la xilosa, de la lactosa o de la sacarosa produce un viraje del rojo de fenol a amarillo contenido en el medio. Los microorganismos que descarboxilan la lisina, como *Salmonella*, se reconocen por presentar colonias rojo-anaranjadas debido al aumento del pH que han provocado en el medio y el consecuente viraje del rojo de fenol. Además por la presencia de tiosulfato y citrato de hierro y amonio las bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno dan colonias ennegrecidas (Cultimed, 2003).

En el agar Hektoen-entérico, la presencia de dos indicadores permite diferenciar las colonias de bacterias lactosa positivas de las lactosa negativas, las primeras toman un color amarillo anaranjado y las segundas un azul verdoso (Como es el caso de *Salmonella*). Los microorganismos que fermentan la sacarosa y la salicina también toman un color amarillo anaranjado. Con el tiosulfato de sodio y el citrato de hierro y amonio se detectan los productores de sulfuro de hidrógeno por el precipitado negro de sulfuro de hierro que presentan las bacterias en el centro de las colonias. La presencia de sales biliares inhibe el crecimiento de una gran parte de la flora acompañante (Cultimed, 2003).

A continuación se muestra el esquema realizado:

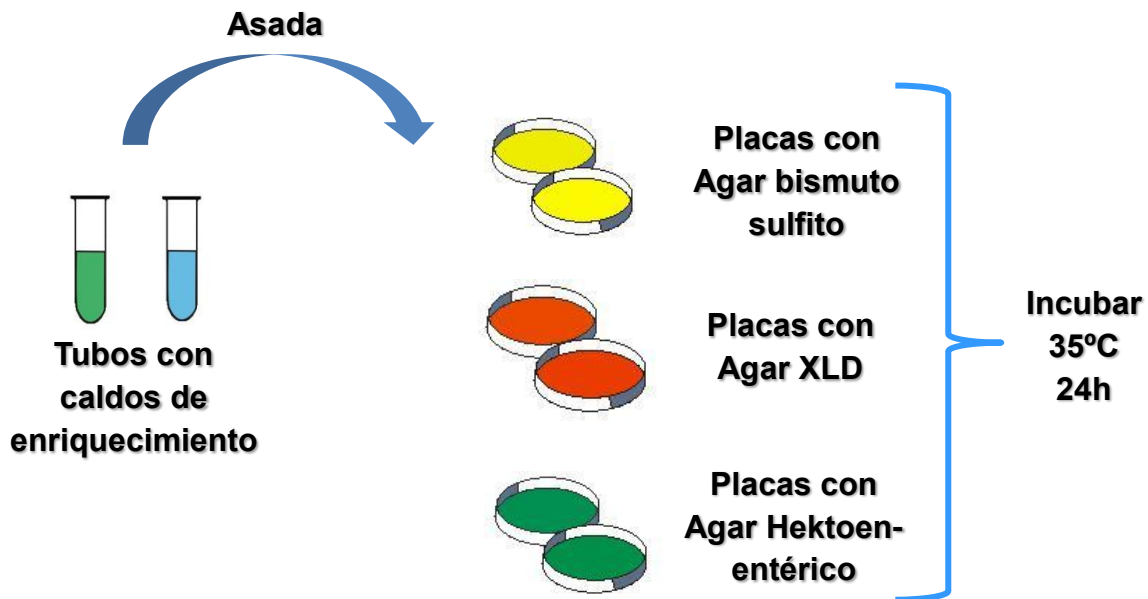


Figura #3: Etapa de aislamiento de *Salmonella* en pollo.

4.4.2 Identificación de colonias presuntivas de *Salmonella*

- Pruebas bioquímicas preliminares
 - Agar Kligler y agar lisina-hierro

Se transfirieron colonias presuntivas obtenidas en cada uno de los agares selectivos al agar Kligler y luego sin flamear el asa se inoculó en agar lisina-hierro. En ambos medios se realizó punción en el taco y se estrió el bisel. Se incubaron los tubos a 35°C por 24h. Al final de la incubación se seleccionaron los tubos que presentaron en el agar Kligler un bisel alcalino de color rojo (debido a la no fermentación de la lactosa) y un taco ácido de color amarillo (debido a la fermentación de la glucosa) con o sin producción de H₂S que se manifestó por ennegrecimiento total o parcial del agar. Además se seleccionaron los tubos

que presentaron en el agar lisina-hierro reacción alcalina en el bisel de color violeta (producto de la descarboxilación de la lisina) con o sin producción de H₂S.

Todas las enterobacterias fermentan la glucosa y el pH del medio disminuye. Luego si son capaces de descarboxilar la lisina, aumenta el pH del medio, por lo que el púrpura de bromocresol recupera el color púrpura. Luego de la incubación, los tubos positivos tomaron un color púrpura o violeta mientras que los tubos negativos tomaron un color amarillo. Generalmente *Salmonella* es capaz de descarboxilar la lisina, por lo que da resultados positivos para esta prueba. Sin embargo, hay cepas de *Salmonella* que no son capaces de descarboxilar la lisina (Cultimed, 2003).

Se procedió a realizar las pruebas bioquímicas confirmativas en aquellas cepas que dieron resultados típicos en una de las dos pruebas preliminares.

A continuación se muestra el esquema realizado:

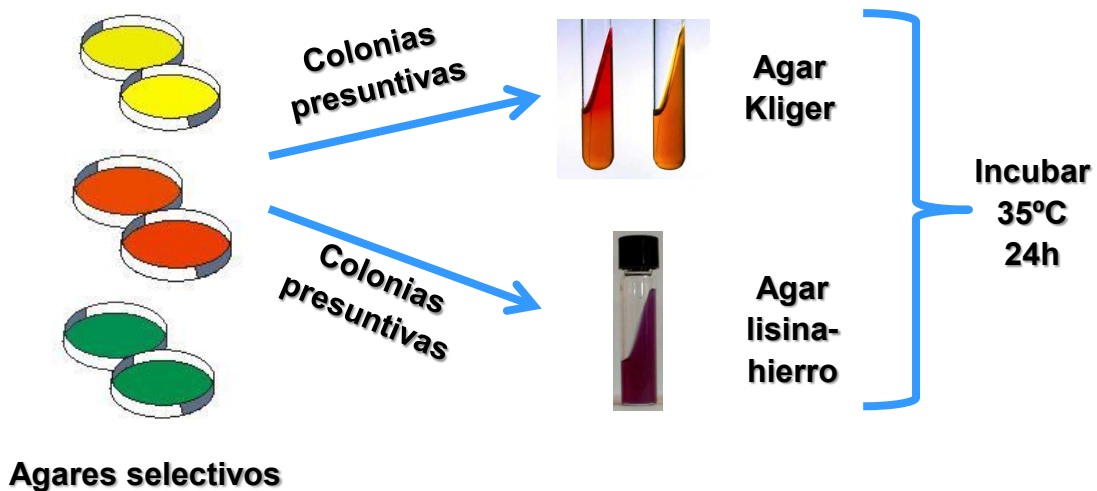


Figura #4: Esquema de pruebas bioquímicas preliminares en el aislamiento de *Salmonella* en pollo.

- Pruebas bioquímicas confirmativas, galerías API 20E y aglutinación en látex
- Coloración Gram

A partir del medio Kligler se realizó una coloración Gram para constatar la presencia de bacilos cortos Gram negativos (-). Las cepas con la morfología característica se inocularon en:

- Caldo urea

A partir del medio Kligler se transfirió una asada del bisel a un tubo con caldo urea. Se incubaron los tubos a 35°C por 24h. Dado que no hay más fuente de carbono que la que proviene de la urea, en este medio sólo podrán crecer aquellos microorganismos capaces de consumirla como única fuente de energía. Una reacción positiva a la ureasa se pondrá de manifiesto por el cambio de color del medio (de amarillo a rojo) por el viraje del indicador de pH, rojo de Fenol y una reacción negativa conservará el color original del medio. *Salmonella* da un resultado negativo a esta prueba.

- Caldo triptófano

A partir del medio Kligler se transfirió una asada del bisel a un tubo con agua peptonada. Se incubaron los tubos a 35°C por 24h. Luego de la incubación se transfirieron 5 mL del cultivo de 24h a un tubo de ensayo estéril y se añadieron 3 gotas del reactivo de Kovac's. La peptona tiene una elevada concentración de triptófano, el cual es degradado a indol por un cierto número de microorganismos. La presencia de indol se evidencia por la formación de un anillo de coloración rojo intenso que se obtiene al añadir al cultivo el reactivo de Kovac's, en cambio la formación de un anillo amarillo indica un resultado negativo. *Salmonella* da reacción negativa a esta prueba (Cultimed, 2003).

- Pruebas bioquímicas API 20E

Finalmente a las cepas que dieron resultados típicos de *Salmonella* en las pruebas confirmativas se les aplicaron las pruebas rápidas de identificación API 20E. Se realizó una suspensión de la cepa de *Salmonella* aislada en solución salina a partir del crecimiento en cuñas de agar blando y se inoculó dicha suspensión en los diferentes pocillos. La galería se incubó a 35-37°C y se realizó la lectura de las pruebas bioquímicas a las 24h. A partir de los perfiles numéricos que se obtuvieron, las cepas fueron identificadas utilizando el programa ATB plus.

A continuación se muestra el esquema realizado:

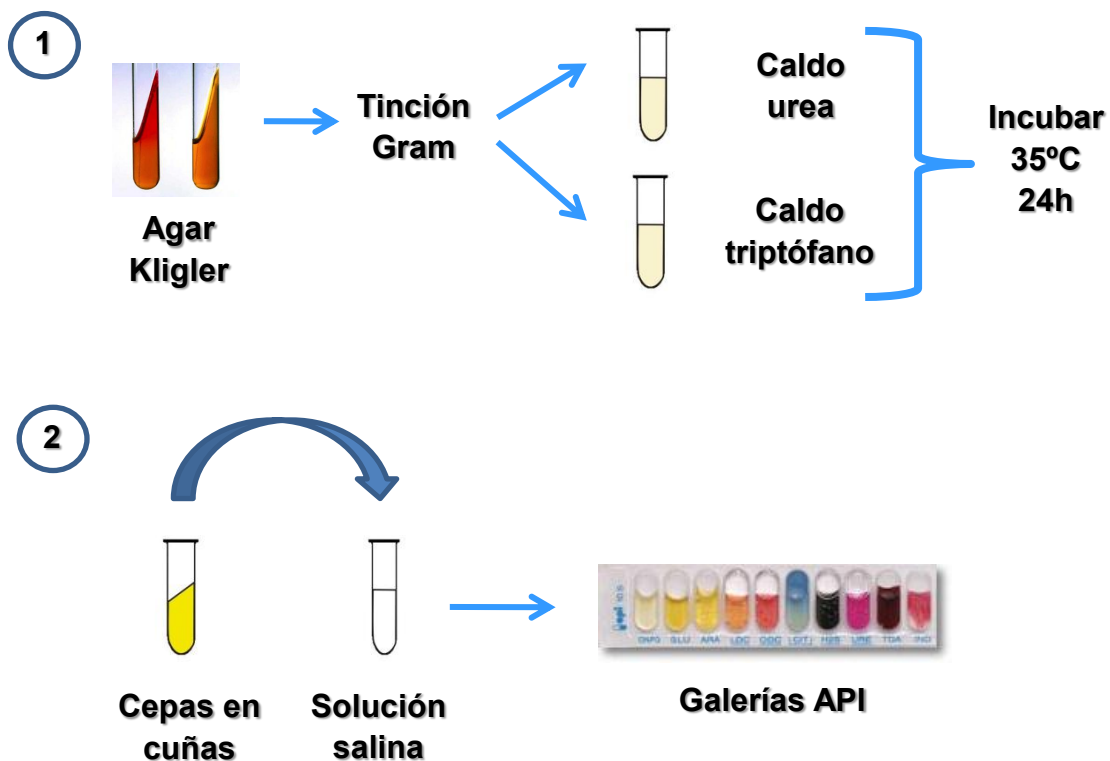


Figura #5: Esquema de pruebas bioquímicas confirmativas y aplicación de galerías API en la identificación de *Salmonella* en pollo.

- Identificación con aglutinación en látex

Algunas de las cepas identificadas con las galerías API fueron confirmadas con aglutinación en látex.

4.4.3 Expresión de los resultados

Se indicó la presencia o ausencia de *Salmonella* en 25g de cada muestra analizada.

4.4.4 Detección de cepas de *Salmonella* resistente a antibióticos

Para la detección de cepas resistentes a antibióticos se aplicó el método de disco difusión descrito por Bauer y col., en 1966. Esta parte se realizó con la cepa de *Salmonella* aislada de la muestra de pollo, con la cepa pura de *Salmonella* spp. y con la cepa control de *Escherichia coli* (ATCC 25922). A continuación se muestran los pasos realizados:

➤ Preparación del estándar de McFarland

El estándar de turbidez 0.5 de McFarland se preparó adicionando 0.5mL de BaCl₂ (1%) a 99.5mL de H₂SO₄ (0.36N) (Bauer y col., 1966).

➤ Preparación del cultivo

Se inocularon 2 o 3 colonias de *Salmonella* previamente aislada e identificada en 4mL de caldo tripticasa soya hasta alcanzar el estándar de turbidez 0.5 de McFarland, el cual corresponde a una población de 10⁸ UFC/mL (Bauer y col., 1966).

➤ Aplicación de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

Se analizó la susceptibilidad de las cepas a un total de 11 antibióticos. Para ello, se extendió sobre placas de agar Müeller Hinton la suspensión de la cepa mediante un hisopo estéril. Los discos de papel secante impregnados con los antibióticos se depositaron sobre las placas con una pinza estéril (se colocaron 4 antibióticos por placa) y se incubaron invertidas a 35-37°C durante 18-24h. Esto se realizó por duplicado para cada antibiótico. El

antibiótico se difundió radialmente a través del espesor del agar formándose un gradiente de concentración. Luego de 24 horas de incubación, los discos aparecieron rodeados por una zona de inhibición. Dependiendo de la longitud del halo de inhibición obtenida, las cepas se clasificaron como sensibles, intermedias o resistentes de acuerdo con los criterios de interpretación del manual de la CLSI (Bauer y col., 1966). Las cuales se definen como (Ruíz y col., 2001):

Cepas sensibles: Estas cepas pueden ser apropiadamente tratadas con dosis de antibióticos recomendadas para un tipo de infección particular.

Cepas intermedias: Son aquellas cepas cuyas concentraciones mínimas inhibitorias se aproximan a los niveles alcanzables en tejidos y sangre, y para los que la tasa de respuesta puede ser más baja que la de las cepas sensibles.

Cepas resistentes: Estas cepas no son inhibidas por las concentraciones usualmente alcanzables de un agente con régimen terapéutico normal, por lo tanto la eficacia clínica no es confiable en estudios terapéuticos.

A continuación se muestra el esquema realizado:

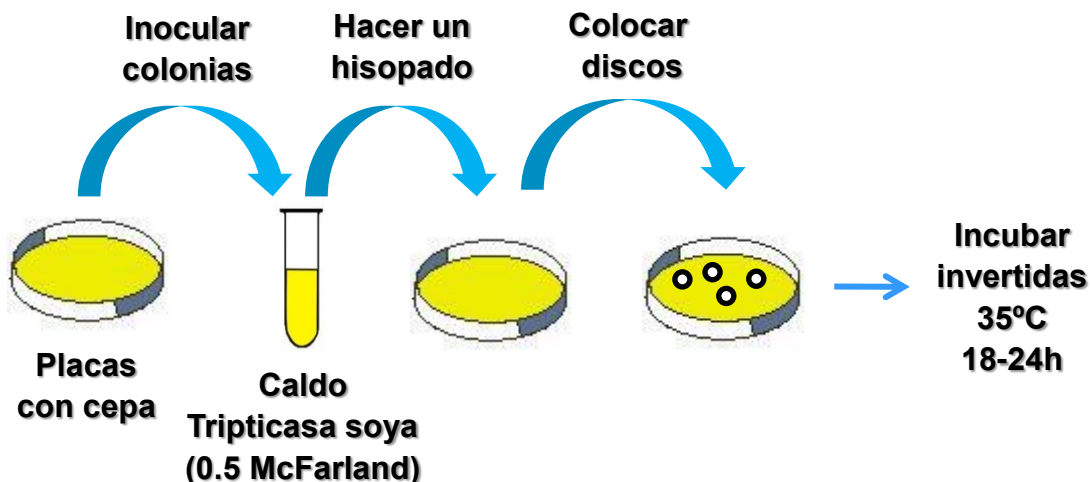


Figura #6: Esquema de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos mediante el método de disco difusión descrito por Bauer y col., 1966.

4.4.5 Análisis de la multirresistencia

La multirresistencia a antibióticos fue calculada para cada cepa a través del índice de resistencia múltiple a antibióticos el cual se encuentra expresado a continuación (Singh y col., 2010):

$$\text{MAR: } \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de antibióticos para los cuales la cepa presentó resistencia}}{\text{N}^{\circ} \text{ de antibióticos al cual se expuso la cepa}}$$

Un índice mayor a 0.2 indica que la bacteria presenta resistencia múltiple (Vanegas y col., 2009).

4.4.6 Detección de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico

(CMI)

Se determinó la CMI a través del método de microdilución descrito por Andrews, J en el año 2001. Se determinó la CMI de cada antibiótico en aquellas cepas que fueron clasificadas como sensibles e intermedias mediante el método de disco difusión y en la cepa

control (excepto el ácido nalidíxico, ya que su presentación de fármaco comercial no se encuentra en venta en nuestro país). La concentración mínima inhibitoria se define como la más baja concentración del antibiótico que inhibe el crecimiento microbiano después de la incubación (Andrews, 2001). Para determinarla se realizaron los siguientes pasos:

➤ Preparación de los antibióticos

Se adquirieron los antibióticos en forma de pastilla, suspensión o de ampolla y se realizaron distintas diluciones a partir de la concentración madre de cada uno de ellos para alcanzar principalmente 3 concentraciones (10.000, 1.000 y 100 µg/mL) (Ver Anexos 9.1). Posteriormente a partir de estas 3 concentraciones obtenidas se realizaron diluciones para alcanzar concentraciones entre 128 y 0.0625 µg/mL (Ver Anexos 9.2).

➤ Preparación del cultivo

Se inocularon 2 o 3 colonias de *Salmonella* previamente aislada e identificada en 4mL de caldo Müeller Hinton hasta alcanzar el estándar de turbidez 0.5 de McFarland, el cual corresponde a una población de 10^8 UFC/mL.

➤ Siembra en placa de microtitulación

Luego utilizando una placa de microtitulación, se colocaron 75µL de cada dilución realizada del antibiótico en cada posillo y 75µL del microorganismo de prueba. Además se inoculó una fila conteniendo sólo la cepa (controla que el caldo esté en condiciones apropiadas para soportar el crecimiento del microorganismo), una fila conteniendo sólo el caldo Müeller Hinton (controla la esterilidad) y una fila conteniendo sólo el antibiótico. Luego se incubaron las placas por 24h a 35-37°C. Al final de la incubación se midió la absorbancia con el lector de placas Biorad modelo 3550 a una longitud de onda de 595nm.

Finalmente se determinó la concentración mínima inhibitoria comparando las absorbancia obtenidas. La concentración en la cual la absorbancia de la cepa con antibiótico empieza a disminuir con respecto a la absorbancia de la cepa sola es la concentración mínima inhibitoria.

A continuación se muestra el esquema realizado:

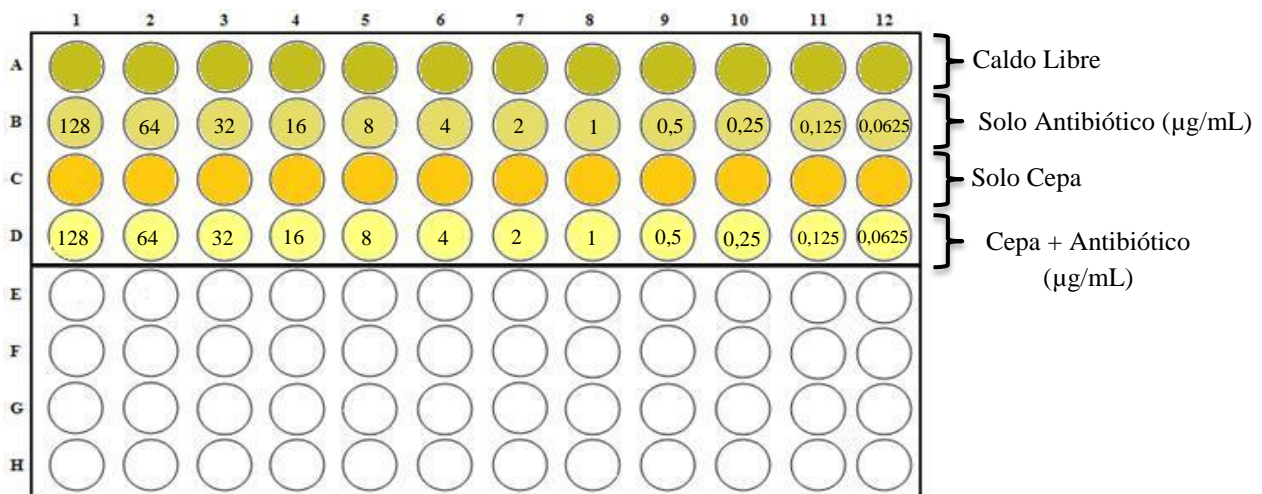


Figura #7: Siembra en placa de microtitulación para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico mediante el método de microdilución descrito por Andrews, 2001.

4.4.7 Análisis estadístico de los resultados

- Comparación de los resultados obtenidos en la longitud de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa pura de *Salmonella* spp.

Se compararon los resultados obtenidos en la longitud de los halos de inhibición de las cepas aisladas con los resultados obtenidos en la cepa pura de *Salmonella* spp. Se aplicó en Microsoft Excel un análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza para así determinar si hubo diferencia significativa entre estos resultados.

La hipótesis nula planteada fue: “no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos en las cepas aisladas con la cepa pura de *Salmonella* spp.”.

- Comparación de los resultados obtenidos en la longitud de los halos de inhibición de las 9 cepas entre sí.

Se compararon los resultados obtenidos en la longitud de los halos de inhibición de las 9 cepas entre sí. Se aplicó en Microsoft Excel un análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza para así determinar si hubo diferencia significativa entre estos resultados.

La hipótesis nula planteada fue: “no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos entre las 9 cepas entre sí”.

- Comparación de los resultados obtenidos entre el método de disco difusión y el método de microdilución.

Se compararon los resultados obtenidos entre los dos métodos utilizados. Se aplicó en Microsoft Excel un análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza a los porcentajes de cepas intermedias y cepas sensibles obtenidos con ambos métodos con el fin de evaluar si hubo diferencia significativa entre los resultados obtenidos.

La hipótesis nula planteada fue: “no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos por el método de disco difusión con el método de microdilución”.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Aislamiento e identificación de cepas de *Salmonella* en muestras de pollo

A partir del crecimiento obtenido en los 3 tipos de agares selectivos se seleccionaron un total de 216 colonias con características propias de *Salmonella*. Se seleccionaron las colonias marrones o grises a negro con o sin brillo metálico en el agar bismuto sulfito, las colonias incoloras o ligeramente rosadas con o sin centro negro en el agar XLD y las colonias azul verdosas o azules con o sin centro negro en el agar Hektoen-entérico.

A continuación se muestra en la figura #8, #9 y #10 las imágenes de las colonias obtenidas en cada uno de los agares selectivos.

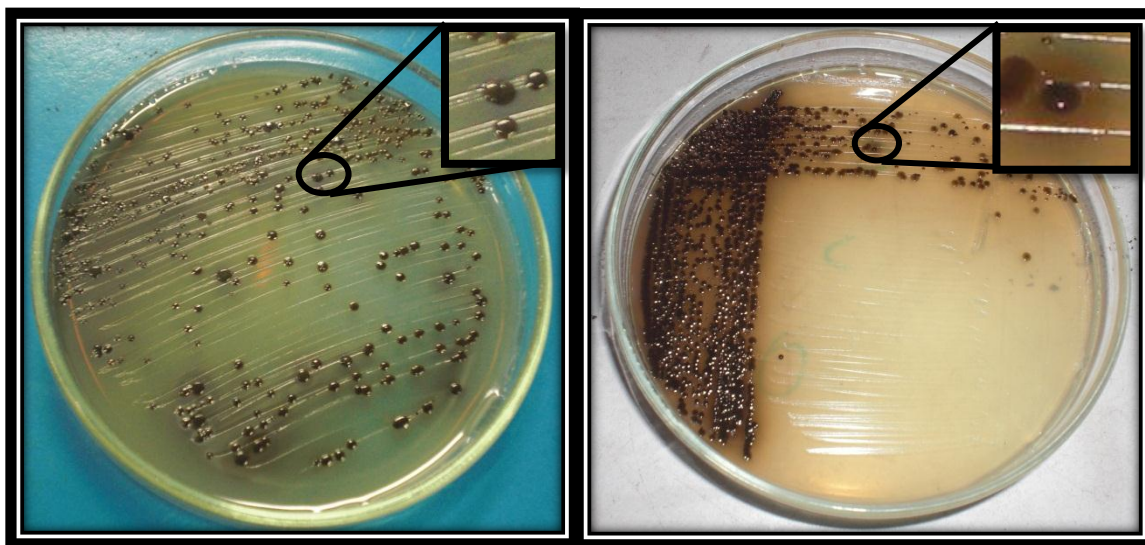


Figura #8: Colonias características de *Salmonella* obtenidas en agar bismuto sulfito.

Se seleccionaron las colonias marrones o grises a negro.



Figura #9: Colonias características de *Salmonella* obtenidas en agar XLD. Se seleccionaron las colonias levemente rosadas, algunas con producción de H₂S.

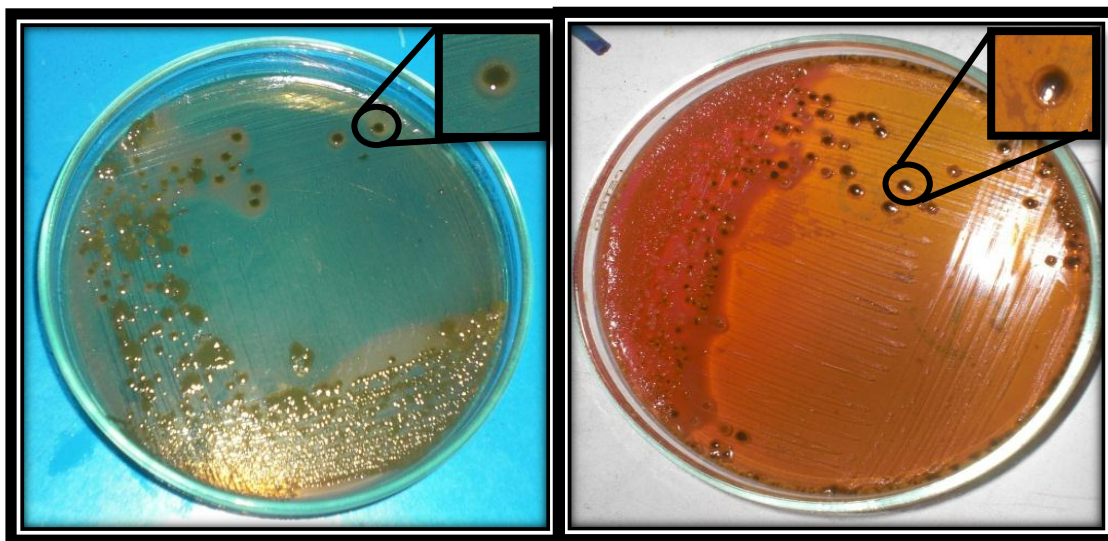


Figura #10: Colonias características de *Salmonella* obtenidas en agar Hektoen-entérico. Se seleccionaron las colonias verdes, algunas con producción de H₂S.

Luego a las 216 colonias seleccionadas en los 3 tipos de agares selectivos se les aplicaron las pruebas bioquímicas preliminares, obteniéndose luego del período de incubación un total de 132 cepas que presentaron en la prueba del Kligler un taco amarillo

y un bisel rosado con producción de H₂S parcial o total y/o un bisel violeta en la prueba lisina-hierro. A continuación se muestra en la Figura #11 el resultado obtenido en la prueba del Kligler y en la figura #12 el resultado obtenido en la prueba lisina-hierro.

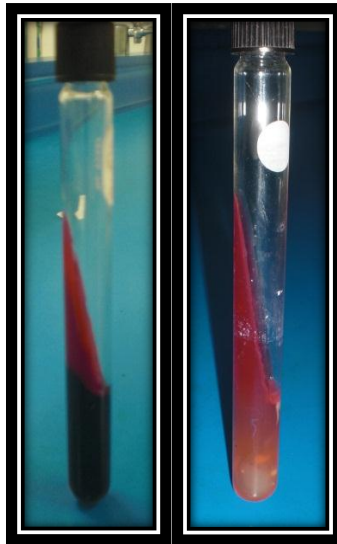


Figura #11: Resultados característicos de *Salmonella* en la Prueba del Kligler. Se obtuvo un taco amarillo (con o sin formación de H₂S) producto de la fermentación de la glucosa y un bisel rosado debido a la no fermentación de la lactosa.

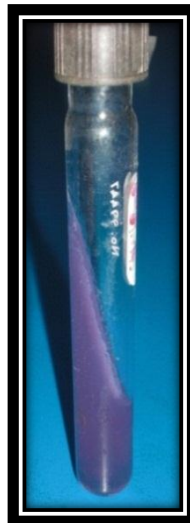


Figura #12: Resultados característicos de *Salmonella* en la prueba lisina-hierro. Se obtuvo una reacción alcalina en el bisel de color violeta (producto de la descarboxilación de la lisina) con o sin producción de H₂S.

Posteriormente, a las 132 cepas seleccionadas de manera previa se les aplicaron las pruebas bioquímicas confirmativas, es decir, tinción Gram, caldo urea y caldo triptófano.

Al realizar la tinción Gram a las 132 cepas se obtuvieron bacilos cortos Gram negativos. A continuación se muestra en la figura #13 los resultados obtenidos.

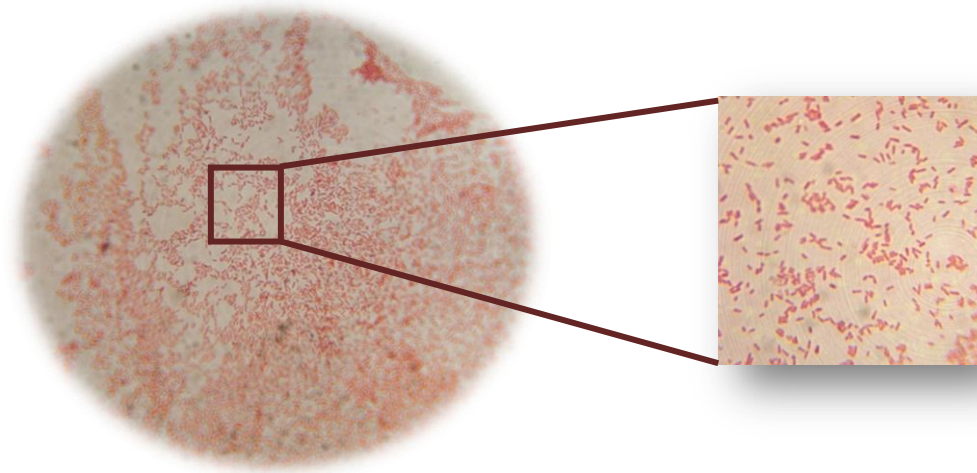


Figura #13: Imagen del microscopio con un aumento de 100X luego de realizar la tinción Gram. Se obtuvieron bacilos cortos Gram -.

Luego del período de incubación requerido para las respectivas pruebas, de las 132 cepas seleccionadas, a través de las pruebas bioquímicas preliminares, sólo 21 cepas dieron un resultado negativo, tanto en caldo urea como en caldo triptófano (resultados característicos de *Salmonella*). A continuación se muestra en la figura #14 el resultado obtenido en caldo urea y en la figura #15 el resultado obtenido en caldo triptófano.

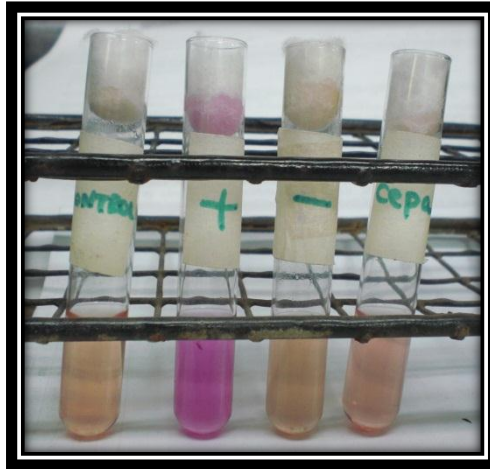


Figura #14: Resultados obtenidos en caldo urea con sus respectivos controles positivos y negativos. En los tubos inoculados con las cepas aisladas no se obtuvo cambio de coloración al igual que el control negativo, indicándonos que *Salmonella* no es capaz de utilizar la urea como fuente de energía.

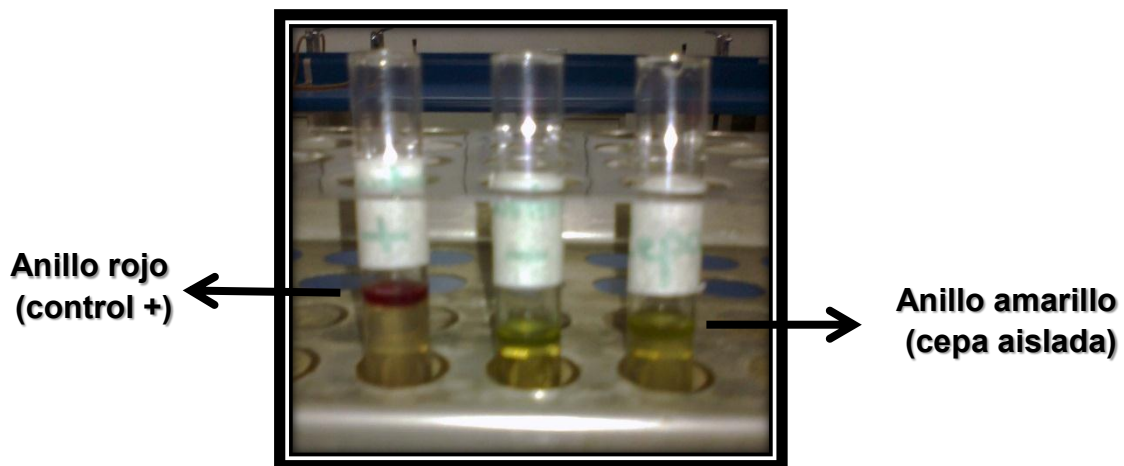


Figura #15: Resultados obtenidos en caldo triptófano con sus respectivos controles positivos y negativos. En los tubos inoculados con las cepas aisladas se obtuvo un resultado igual al control negativo (anillo amarillo), indicándonos que *Salmonella* no es capaz de liberar indol a partir de triptófano.

Finalmente, las 21 cepas seleccionadas luego de aplicar las pruebas confirmativas, fueron identificadas a través de las galerías API 20E. Luego de la lectura de los resultados obtenidos mediante el programa ATB plus se confirmaron finalmente un total de 9 cepas de *Salmonella*. De estas 9 cepas, 8 fueron identificadas como *Salmonella* spp. (5 de ellas con un 89.4% de confianza, 2 de ellas con un 99,9% de confianza y 1 con un 98.9% de confianza) y 1 fue identificada como *Salmonella arizonae* con un 99,7% de confianza.

Algunas de las cepas identificadas como *Salmonella* spp. con las galerías API, fueron confirmadas con aglutinación en látex, obteniéndose los mismos resultados.

Las 9 cepas de *Salmonella* aisladas en las 32 muestras de pollo analizadas, representan una prevalencia de 28,13%.

Los resultados fueron expresados como presencia o ausencia de *Salmonella* en cada muestra analizada. En la tabla #2 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla #2: Presencia o ausencia de *Salmonella* en las 32 muestras de vísceras de pollo adquiridas en el área metropolitana de Caracas.

Muestra	Presencia o ausencia	Muestra	Presencia o ausencia	Muestra	Presencia o ausencia
1	Ausencia/ 25g	12	Presencia/ 25g	23	Ausencia/ 25g
2	Presencia/ 25g	13	Ausencia/ 25g	24	Presencia/ 25g
3	Ausencia/ 25g	14	Ausencia/ 25g	25	Ausencia/ 25g
4	Ausencia/ 25g	15	Ausencia/ 25g	26	Ausencia/ 25g
5	Ausencia/ 25g	16	Ausencia/ 25g	27	Ausencia/ 25g
6	Presencia/ 25g	17	Presencia/ 25g	28	Presencia/ 25g
7	Ausencia/ 25g	18	Ausencia/ 25g	29	Ausencia/ 25g
8	Presencia/ 25g	19	Ausencia/ 25g	30	Ausencia/ 25g
9	Ausencia/ 25g	20	Ausencia/ 25g	31	Presencia/ 25g
10	Ausencia/ 25g	21	Ausencia/ 25g	32	Ausencia/ 25g
11	Ausencia/ 25g	22	Presencia/ 25g	-	-

El porcentaje de *Salmonella* obtenido en dicho estudio (28.13%) nos indica que este tipo de alimento en el área metropolitana no está exento de este patógeno, a pesar que el mismo posee tolerancia cero en las normas Covenin (Covenin, 1986). Este porcentaje de aislamiento es relevante ya que nos indica que aproximadamente 1 de cada 4 pollos pueden ser fuente de infección de *Salmonella*. La detección de este patógeno en las muestras analizadas nos señala que este producto constituye un peligro para la salud de los consumidores. Se deben aplicar medidas preventivas inmediatas, ya que existe el riesgo de

aparición de brotes de diarreas o salmonelosis en la población debido al consumo de este alimento.

En Venezuela, la incidencia de salmonelosis en alimentos es poco conocida. Sin embargo, se aíslan con frecuencia cepas de *Salmonella* causantes de diarreas, especialmente en la población infantil, las cuales pudieran tener características microbiológicas y serológicas semejantes a las cepas de *Salmonella* que circulan en los alimentos, específicamente, a las encontradas en pollo (Molina y col., 2010).

Este porcentaje (28.13%) se aproxima al obtenido por otros investigadores en varios estados del país, tales como Boscán y col. (2005) los cuales reportaron una prevalencia de 23% de cepas de *Salmonella* en vísceras adquiridas en el Estado Zulia y Pérez y col. (2004) cuyos reportes indican una prevalencia de 23,08% en canales de aves beneficiadas de plantas procesadoras del mismo estado. En el Estado Mérida también se ha reportado un porcentaje similar, como los resultados obtenidos por Molina y col. (2010) los cuales obtuvieron una prevalencia de 20% de *Salmonella* en pollo crudo comercializado en dicho estado. En el Estado Aragua otros investigadores han obtenido porcentajes de aislamientos mayores, como el reportado por Infante y col. (1994) los cuales obtuvieron una prevalencia de 32,5%, León y col. (1996) una prevalencia de 58%; ambos casos obtenidos en canales de pollo y Morillo y col. (1996) una prevalencia de 72,5% en alas y vísceras de pollo. Para el área metropolitana de Caracas no se encontraron investigaciones que sustenten la incidencia de *Salmonella* en este tipo de alimento.

En otros países, muchos investigadores han aislado *Salmonella* en pollo. En Brasil, Costa Rica y Alemania se han reportado porcentajes menores a los obtenidos en este

estudio, como los resultados señalados por varios autores como Duarte y col. (2009), Reuben y col. (2003) y Schwaiger y col. (2012) (9.6%, 15% y 17% respectivamente).

En Turquía, Estados Unidos, Irán, Portugal y Nepal se han reportado porcentajes mayores, como los resultados obtenidos por Yildirim y col. (2011), White y col. (2001), Dallal y col. (2010), Antunes y col. (2003) y Shrestha y col. (2010) (34%, 35%, 45%, 60% y 75% respectivamente). Aunado a esto, otros investigadores han reportado hasta un 100% de *Salmonella* en todas las muestras analizadas (Camacho y col., 2010).

Se debe controlar la introducción y multiplicación de este microorganismo a lo largo de la cadena productiva avícola. Se deben mantener las aves reproductoras libres de *Salmonella* ya que una bandada infectada difundirá la infección a una gran cantidad de bandadas comerciales. Además, es necesario implementar Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), Buenas Prácticas de Higiene (BPH), incluyendo el buen diseño, mantenimiento y limpieza del equipo y la aplicación de procedimientos basados en los principios de HACCP en toda la cadena alimentaria. Es fundamental controlar la temperatura de almacenamiento del pollo y el tiempo de conservación. Por otro lado, se debe educar a los manipuladores de alimentos sobre la importancia de una excelente higiene personal (<ftp://ftp.fao.org>) y aplicar estrictamente las prácticas que prevendrán una posible contaminación cruzada y siempre alcanzar una cocción completa de todos los alimentos de origen animal.

El consumo de vísceras de pollo (hígado y mollejas, entre otros) forma parte de la cultura de muchos países latinoamericanos, debido a su bajo costo y alto contenido proteínico. Por lo tanto, es necesario evaluar la presencia de esta bacteria en este tipo de producto listo para la venta al consumidor (Reuben y col., 2003). Además la presencia de

Salmonella en las vísceras nos indica que, probablemente, todo el pollo beneficiado se encuentra infectado por este patógeno.

5.2 Detección de cepas de *Salmonella* resistente a antibióticos

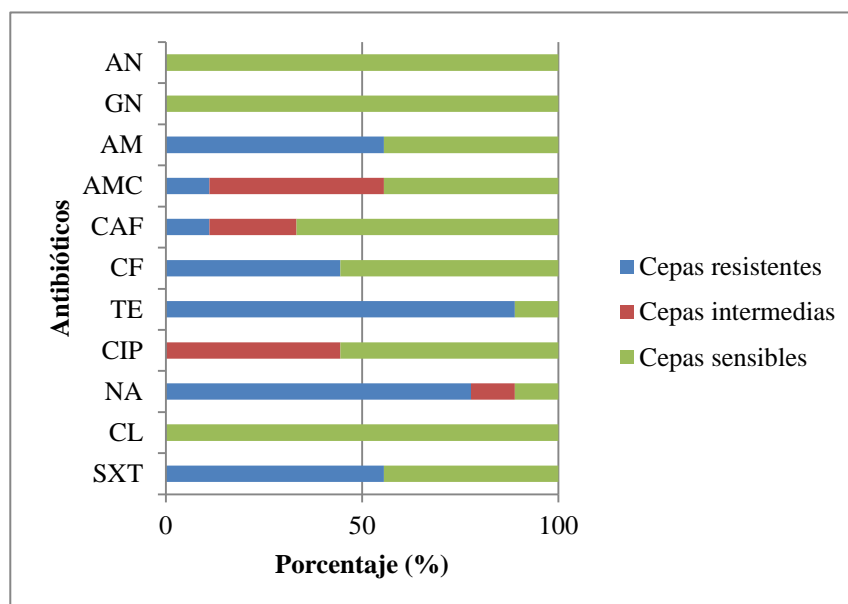
Los porcentajes obtenidos de cepas resistentes, intermedias y sensibles para cada antibiótico serán mostrados en la tabla #3 y figura #16 de manera global y luego serán explicados detalladamente por antibióticos.

En la tabla #3 y figura #16 se muestran los porcentajes obtenidos de cepas resistentes, intermedias y sensibles para cada antibiótico. Los antibióticos que presentaron el mayor número de aislamientos resistentes fueron tetraciclina (88.89%), seguido de ácido nalidíxico (77.78%), ampicilina y trimetoprima-sulfametoxazol (55.56%) y cefalotina (44.44%), finalmente amoxicilina-ácido clavulánico y ceftazidime obtuvieron un porcentaje de resistencia menor (11.11%). Por el contrario, no hubo cepas resistentes para los antibióticos amikacina, gentamicina, ciprofloxacina y cloranfenicol. Los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, ciprofloxacina, ceftazidime y ácido nalidíxico mostraron sensibilidad intermedia con valores entre 11.11% y 44.44%. Finalmente los antibióticos que presentaron el mayor número de aislamientos sensibles fueron amikacina, gentamicina y cloranfenicol (100%), seguido de ceftazidime (66.66%), ciprofloxacina y cefalotina (55.56%), amoxicilina-ácido clavulánico y ampicilina (44.44%), mientras que tetraciclina y ácido nalidíxico presentaron la menor sensibilidad (11.11%).

Tabla #3: Número y porcentaje obtenido de cepas resistentes, intermedias y sensibles para los 11 antibióticos probados.

Antibióticos	Cepas resistentes		Cepas intermedias		Cepas sensibles	
	Nº	Porcentaje (%)	Nº	Porcentaje (%)	Nº	Porcentaje (%)
AN	0	0	0	0	9	100
GN	0	0	0	0	9	100
AM	5	55.56	0	0	4	44.44
AMC	1	11.11	4	44.44	4	44.44
CAF	1	11.11	2	22.22	6	66.66
CF	4	44.44	0	0	5	55.55
TE	8	88.89	0	0	1	11.11
CIP	0	0	4	44.44	5	55.56
NA	7	77.78	1	11.11	1	11.11
CL	0	0	0	0	9	100
SXT	5	55.56	0	0	4	44.44

AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, NA: ácido nalidíxico, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.



AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, NA: ácido nalidíxico, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

Figura #16: Porcentajes de cepas resistentes, intermedias y sensibles para cada uno de los antibióticos evaluados.

A continuación se muestran los resultados que corresponden a la evaluación de cada antibiótico probado en las 9 cepas aisladas, en la cepa pura de *Salmonella* spp. y en la cepa control de *Escherichia coli* con su respectivos duplicados, promedio de las medidas de los halos de inhibición y clasificación de la susceptibilidad. Los criterios para la clasificación de la susceptibilidad (sensible, intermedio, resistente) se establecieron siguiendo los parámetros descritos en el manual de la CLSI (CLSI, 2000). Los halos de inhibición obtenidos para cada antibiótico se encuentran en Anexos 9.3.

❖ Aminoglucósidos

➤ Amikacina

A continuación se muestra en la tabla #4 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico amikacina y la clasificación de la susceptibilidad para cada cepa.

Tabla #4: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amikacina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	21	20	21	22	22	20	21	23	22	23	21
20	20	22	20	22	18	25	24	23	22	21	
Promedio	20.5	20	21.5	21	22	19	23	23.5	22.5	22.5	21
Clasificación	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Sensible

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Todas las cepas presentaron halos de inhibición mayores a 17 mm, por lo tanto fueron clasificadas como sensibles. La cepa control generó halos de inhibición que se

encuentran entre los límites establecidos para este antibiótico (19-26mm), indicándonos la fiabilidad de la metodología. Finalmente se obtuvo para el antibiótico amikacina 0% de resistencia.

No se obtuvo resistencia al antibiótico amikacina, lo cual coincide con los resultados obtenidos en otros estados del país, como los reportados en el Estado Mérida por Molina y col. (2010). Sin embargo, en el Estado Aragua, Sandoval y col. (1995) si reportaron resistencia (7.1%).

En Colombia y Estados Unidos otros investigadores tampoco obtuvieron resistencia a este antibiótico (Ruíz y col., 2006; White y col., 2001). Sin embargo, en Colombia y en Alemania otros investigadores si han obtenido resistencia, como lo señalan Mantilla y col. (2010) y Yildirim y col. (2011) (30% y 2.9% respectivamente).

➤ Gentamicina

A continuación se muestra en la tabla #5 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico gentamicina.

Tabla #5: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico gentamicina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	19	19	21	16	23	17	17	23	22	16	21
20	20	20	18	24	15	17	20	20	16	23	
Promedio	19.5	19.5	20.5	17	23.5	16	17	21.5	21	16	22
Clasificación	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Sensible

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Todas las cepas probadas presentaron halos de inhibición mayores a 15mm, por lo tanto fueron clasificadas como sensibles. La cepa control se encontró entre los límites establecidos para este antibiótico (19-26mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico gentamicina, un 0% de resistencia.

No se obtuvo resistencia al antibiótico gentamicina, lo cual coincide con los resultados obtenidos en otros estados del país, como los reportados en el Estado Mérida por Molina y col. (2010). Sin embargo, en el Estado Aragua, Sandoval y col. (1995) obtuvieron un 2.8% de resistencia.

En Portugal, Brasil, Colombia, Nepal e Irán tampoco obtuvieron resistencia los investigadores Antunes y col. (2003), Duarte y col. (2009), Ruíz y col. (2006), Shrestha y col. (2010) y Dallal y col. (2010).

En la India, Colombia, Turquía y Estados Unidos se ha reportado la existencia de cepas resistentes a dicho antibiótico, tal como lo señalan Singh y col. (2010), Mantilla y

col. (2010), Yildirim y col. (2011) y White y col. (2001) (40.74%, 20%, 14.7% y 10% respectivamente).

No se obtuvo resistencia a ninguno de los antibióticos probados del grupo aminoglucósidos. Esto nos indica que posiblemente estos antibióticos no son utilizados o son usados en menor grado en las aves adquiridas en el área metropolitana. Esto es importante ya que la principal actividad de los aminoglucósidos ocurre sobre las bacterias aerobias Gram negativas, entre las cuales se encuentra *Salmonella*.

❖ Betalactámicos

➤ Ampicilina

A continuación se muestra en la tabla #6 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico ampicilina.

Tabla #6: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ampicilina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	24	20	20	0	0	22	0	0	0	23	22
	25	20	20	0	8	20	0	0	0	21	22
Promedio	24.5	20	20	0	4	21	0	0	0	22	22
Clasificación	S	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S

S: Sensible, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Las cepas #2, #3, #5, #6 y #7 presentaron halos de inhibición menores a 13 mm, por lo tanto fueron clasificadas como resistentes, no obstante la cepa pura y las cepas #1, #4, #8 y #9 presentaron halos de longitud mayores a 17 mm, por lo tanto se clasificaron como sensibles. La cepa control generó halos de inhibición dentro de los límites establecidos para este antibiótico (16-22mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico ampicilina, un 55.56% de resistencia.

En otros estados de Venezuela, tales como el Estado Mérida, se han reportado porcentajes de resistencia mayores (66.67%) (Molina y col., 2010). Sin embargo, en el Estado Aragua, Sandoval y col. (1995) obtuvieron porcentajes menores de resistencia (46.5%).

En México, Brasil y Estados Unidos se han reportado porcentajes menores como lo señalan Camacho y col. (2010), Duarte y col. (2009) y White y col. (2001) (26%, 10.5% y 15% respectivamente).

En países como Turquía y Nepal, algunos investigadores han reportado porcentajes mayores, como los resultados obtenidos por Yildirim y col. (2011) y Shrestha y col. (2010) (85.2% y 97.4% respectivamente). Sin embargo, en Colombia y en España otros investigadores no han encontrado resistencia a dicho antibiótico (Mantilla y col., 2010; Carramiñana y col., 2004).

➤ Amoxicilina-Ácido clavulánico

A continuación se muestra en la tabla #7 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico.

Tabla #7: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	26	23	26	16	16	23	14	9	16	25	24
27	20	26	15	18	22	14	10	17	25	25	
Promedio	26.5	21.5	26	15.5	17	22.5	14	9.5	16.5	25	24.5
Clasificación	S	S	S	I	I	S	I	R	I	S	S

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

La cepa #6 presentó halos de inhibición menores a 13mm, por lo tanto fue clasificada como resistente, en cambio las cepas #2, #3, #5 y #7 presentaron halos de inhibición entre 14 y 17mm, por lo cual se clasificaron como intermedias, mientras que la cepa pura y las cepas #1, #4, #8 y #9 los halos de inhibición fueron mayores a 17 mm, clasificándolas entonces como sensibles. La cepa control dio medidas de halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos para este antibiótico (18-24mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico Amoxicilina-ácido clavulánico, un 11.11% de resistencia.

El 11.11% de resistencia obtenido en dicho estudio al antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico se aproxima a los resultados reportados en Brasil y Estados Unidos por Duarte y col. (2009) y por White y col. (2001) (10.5% y 10% respectivamente) y es mayor al 1.5% de resistencia reportado en España (Carramiñana y col., 2004). Sin embargo, en países como México y Nepal se han obtenido porcentajes mayores, como los resultados reportados por Camacho y col. (2010) y Shrestha y col. (2010) (38% y 97.4% respectivamente).

En Portugal, otros investigadores no han reportado la existencia de cepas resistentes, tal como lo reflejan en su trabajo Antunes y col. (2003). A pesar de la baja resistencia obtenida, se debe tomar en cuenta que el 44.44% de cepas presentaron sensibilidad intermedia, lo que significa que es posible que estas cepas estén próximas a convertirse en cepas resistentes.

➤ Ceftazidime

A continuación se muestra en la tabla #8 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico ceftazidime.

Tabla #8: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ceftazidime y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	26	32	24	18	18	23	18	14	26	21	25
27	32	25	16	18	21	16	14	25	21	24	
Promedio	26.5	32	24.5	17	18	22	17	14	25.5	21	24.5
Clasificación	S	S	S	I	S	S	I	R	S	S	S

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

La cepa #6 presentó halos de inhibición iguales a 14mm por lo tanto fue clasificada como resistente. Para la cepa #2 y #5 se obtuvieron halos de inhibición entre 15 y 17mm por lo tanto se clasificaron como intermedias y la cepa pura junto con las cepas #1, #3, #4, #7, #8 y #9 presentaron halos de inhibición mayores o iguales a 18 mm, lo que llevó a clasificarlas como sensibles. La cepa control se encuentra entre los límites establecidos para

este antibiótico (25-32 mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico ceftazidime, un 11.11% de resistencia.

El 11.11% de resistencia al antibiótico ceftazidime fue menor al obtenido en otros estados del país, como lo reportan en Mérida, Molina y col. (2010) (44.44% de resistencia). Sin embargo, en otros países como Irán y Portugal, algunos investigadores no han obtenido resistencia. (Dallal y col., 2010; Antunes y col., 2003). Se obtuvo un 22.22% de cepas con sensibilidad intermedia, lo cual significa que es posible que el porcentaje de resistencia obtenido en este estudio tienda al aumento.

➤ Cefalotina

A continuación se muestra en la tabla #9 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico cefalotina.

Tabla #9: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cefalotina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	20	20	20	8	0	20	0	0	18	22	19
23	21	21	8	0	18	0	0	18	22	19	
Promedio	21.5	20.5	20.5	8	0	19	0	0	18	22	19
Clasificación	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Las cepas #2, #3, #5 y #6 presentaron halos de inhibición menores a 14mm por lo tanto fueron clasificadas como resistentes. En cambio, la cepa pura junto con las cepas #1,

#4, #7, #8 y #9 presentaron halos de inhibición mayores a 18 mm, por lo tanto se clasificaron como sensibles. La cepa control dio medidas de halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos para este antibiótico (15-21 mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico cefalotina un 44.44% de resistencia.

El 44.44% de resistencia obtenido al antibiótico cefalotina es similar al porcentaje obtenido en México por Camacho y col. en el 2010 (41%). En países como Estados Unidos y España, algunos investigadores han obtenido porcentajes menores como lo señalado por White y col. (2001) y Carramiñana y col. (2004) (10% y 6% respectivamente).

En Nepal y Turquía se han obtenido porcentajes mayores de resistencia como los reportados por Shrestha y col. (2010) y Yildirim y col. (2011) (94.6% y 52.9% respectivamente). En países como Colombia y Portugal, algunos investigadores no han reportado resistencia (Ruíz y col., 2006; Antunes y col., 2003).

Se obtuvieron cepas resistentes para todos los antibióticos del grupo betalactámicos (Porcentajes entre 11.11% y 55.56%). En EE.UU los antibióticos ampicilina, amoxicilina y algunas cefalosporinas son utilizados para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en pollos de engorda (Camacho y col., 2010). Posiblemente en Venezuela, estos antibióticos también sean utilizados con ese fin y por eso surgieron cepas resistentes a los mismos.

❖ **Tetraciclinas**

➤ Tetraciclina

A continuación se muestra en la tabla #10 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico tetraciclina.

Tabla #10: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico tetraciclina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	21	25	18	0	0	0	0	0	0	0	0
22	25	18	0	8	0	0	8	0	0	0	0
Promedio	21.5	25	18	0	4	0	0	4	0	0	0
Clasificación	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R

S: Sensible, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

La cepa pura y la cepa #1 presentaron halos de inhibición mayores a 15mm, por lo tanto se clasificaron como sensibles, en cambio las cepas #2, #3, #4, #5, #6, #7, #8 y #9 tuvieron halos de inhibición menores a 11mm, siendo clasificadas como resistentes. La cepa control dio medidas de halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos (18-25mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico tetraciclina, un 88.89% de resistencia.

En otros estados del país se han obtenido porcentajes menores como los reportados en el Estado Zulia por Briceño y col. (2007) y en el Estado Aragua por Sandoval y col. (1995) (56.2% y 54.9% respectivamente).

El 88.89% de resistencia se aproxima a los porcentajes obtenidos en Colombia, Nepal y Estados Unidos por investigadores tales como Ruíz y col. (2006), Shrestha y col. (2010) y por White y col. (2001) (90%, 92.3% y 100% respectivamente).

En países como Irán, Turquía, Portugal, Brasil, España, México y Colombia se han reportado porcentajes menores, como los obtenidos por Dallal y col. (2010), Yildirim y col. (2011), Antunes y col. (2003), Duarte y col. (2009), Carramiñana y col. (2004), Camacho y col. (2010) y Ruíz y col. (2006) (69%, 67.6%, 36%, 31.6%, 21.8%, 12% y 3.3% respectivamente). Sin embargo, en la India otros investigadores no han reportado la existencia de cepas resistentes (Singh y col., 2010).

Este resultado es esperado ya que las tetraciclinas son el grupo de antibióticos que más ampliamente se utiliza en la medicina veterinaria, lo que ejerce una presión de selección hacia las resistencias de las bacterias a este tipo de antibióticos.

❖ Quinolonas

➤ Ciprofloxacina

A continuación se muestra en la tabla #11 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico ciprofloxacina.

Tabla #11: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ciprofloxacina y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	32	40	32	16	16	22	18	25	24	26	19
34	40	33	18	18	22	17	27	24	24	18	
Promedio	33	40	32.5	17	17	22	17.5	26	24	25	18.5
Clasificación	S	S	S	I	I	S	I	S	S	S	I

S: Sensible, I: Intermedio

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Las cepas #2, #3, #5 y #9 presentaron halos de longitud entre 16 y 20mm, por lo tanto fueron clasificadas como intermedias, en cambio la cepa pura junto a las cepas #1, #4, #6, #7 y #8 presentaron halos de inhibición mayores a 20 mm, siendo clasificadas como sensibles. La cepa control presentó halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos para este antibiótico (30-40mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico ciprofloxacina, un 0% de resistencia.

En otros estados del país, tales como Zulia y Mérida si se ha reportado resistencia a este antibiótico como los resultados señalados por Briceño y col. (2007) y Molina y col. (2010) (2.7% y 22.22% respectivamente).

En España, Portugal y Estados Unidos tampoco se ha reportado resistencia, como los resultados obtenidos por Carramiñana y col. (2004), Antunes y col. (2003) y White y col. (2001).

A pesar de no haber obtenido resistencia a este antibiótico, se obtuvo un 44.44% de cepas con sensibilidad intermedia, indicándonos que es posible que comiencen a surgir cepas resistentes en un futuro.

➤ Ácido nalidíxico

A continuación se muestra en la tabla #12 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico ácido nalidíxico.

Tabla #12: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ácido nalidíxico y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	23	28	23	8	0	13	0	8	8	16	0
23	28	23	8	0	13	0	7	7	17	0	
Promedio	23	28	23	8	0	13	0	7.5	7.5	16.5	0
Clasificación	S	S	S	R	R	R	R	R	R	I	R

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Las cepas #2, #3, #4, #5, #6, #7 y #9 presentaron halos de inhibición menores a 13 mm, por lo tanto fueron clasificadas como resistentes. La cepa #8 presentó halos entre 14 y 18mm siendo clasificada como intermedia y la cepa pura junto a la cepa #1 presentaron halos de inhibición mayores a 19 mm, clasificándolas como sensibles. La cepa control dio medidas de halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos (22-28 mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico ácido nalidíxico un 77.78% de resistencia.

El 77.78% de resistencia obtenido al antibiótico ácido nalidíxico es similar al obtenido en otros estados de país, como los resultados señalados en el 2007 por Briceño y col. en el Estado Zulia (73.3%). En el Estado Aragua, Sandoval y col. (1995) obtuvieron porcentajes menores de resistencia (54.9%).

En otros países tales como Portugal, Brasil y España se han obtenido porcentajes menores como los reportados por Antunes y col. (2003), Duarte y col. (2009) y Carramiñana y col. (2010) (50%, 21% y 3% respectivamente). En países como Irán y

Nepal, Dallal y col. (2010) y Shrestha y col. (2010) señalaron en sus trabajos porcentajes mayores (82% y 97.4% respectivamente). En Estados Unidos, White y col. en el 2001 no obtuvieron resistencia a dicho antibiótico. Se obtuvo un 11.11% de cepas con sensibilidad intermedia, indicándonos que es posible que comiencen a surgir cepas resistentes a este antibiótico en un futuro.

Este elevado porcentaje de resistencia obtenido en este estudio hacia el ácido nalidíxico es preocupante, ya que las fluoroquinolonas son altamente eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades graves, producidas por bacterias multirresistentes en humanos, y son frecuentemente utilizadas para tratamientos de infecciones causadas por *Salmonella*; por lo que el uso de estas drogas en animales, ha originado controversia (Briceño y col., 2007).

Generalmente, las fluoroquinolonas usadas para el tratamiento de infecciones en animales domésticos son diferentes a las fluoroquinolonas disponibles para uso clínico humano; sin embargo, la resistencia a una fluoroquinolona generalmente produce la resistencia a todas las fluoroquinolonas. Esto puede indicar que los animales están actuando como reservorio de dicha resistencia e influyen en la flora bacteriana de los humanos y comprometen la eficacia de las terapias antimicrobianas (Briceño y col., 2007).

Estas cepas resistentes al ácido nalidíxico en algún momento pueden causar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos, debida al consumo de productos avícolas contaminados con esta bacteria, en este caso, los pacientes podrían tener problemas durante el tratamiento si son utilizadas fluoroquinolonas (Briceño y col., 2007).

La ciprofloxacina es una de las drogas de elección para problemas gastrointestinales en humanos. A pesar de no haber obtenido resistencia a la ciprofloxacina, se obtuvo hacia el ácido nalidíxico, lo cual indica que las cepas de *Salmonella* spp. con resistencia al ácido nalidíxico pueden presentar resistencia cruzada contra otras fluoroquinolonas; por lo tanto, es posible la ocurrencia de fracasos terapéuticos en pacientes tratados por salmonelosis con fluoroquinolonas (Briceño y col, 2007). Incluso en el año 2003, la CLSI advierte que la resistencia al ácido nalidíxico en cepas sensibles a la ciprofloxacina puede ser un marcador de fallo clínico o de respuesta retardada a las fluoroquinolonas (Lepe y col., 2003).

En la producción avícola de Venezuela, se utiliza una gran variedad de antibióticos que incluyen las fluoroquinolonas y otros antimicrobianos; sin embargo, hay escasa información acerca del comportamiento de cepas de *Salmonella* spp. provenientes de pollos de engorde a nivel de granjas y de productos avícolas, contra estos agentes antimicrobianos (Briceño y col., 2007).

❖ **Anfenicoles**

➤ Cloranfenicol

A continuación se muestra en la tabla #13 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico cloranfenicol.

Tabla #13: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cloranfenicol y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	23	36	27	18	22	21	18	25	21	20	24
23	32	26	18	19	25	18	25	19	22	24	
Promedio	23	34	26.5	18	20.5	23	18	25	20	21	24
Clasificación	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Sensible

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Debido a que todas las cepas presentaron halos de longitud mayores o iguales a 18 mm, entonces se clasificaron como sensibles. Para la cepa control se obtuvieron halos de inhibición mayores a los límites establecidos para este antibiótico (21-27 mm). Esto nos indica que, posiblemente, las medidas obtenidas en las distintas cepas estén sobreestimadas. Finalmente se obtuvo para el antibiótico cloranfenicol un 0% de resistencia.

No se obtuvo resistencia al antibiótico cloranfenicol, esto coincide con los resultados reportados en países como España y Colombia (Carramiñana y col., 2004; Ruíz y col., 2006). En otros estados de Venezuela, se han obtenido porcentajes bajos como lo señalado en el Estado Mérida por Molina y col. (2010) y en el Estado Zulia por Briceño y col. (2007) (11.11% y 2.5% respectivamente).

En países como Nepal, la India, Estados Unidos, Turquía, Brasil, Colombia, Portugal e Irán se han obtenido porcentajes bajos tales como los señalados por Shrestha y col. (2010), Singh y col. (2010), White y col. (2001), Yildirim y col. (2011), Duarte y col.

(2009), Mantilla y col. (2010), Antunes y col. (2003) y Dallal y col. (2010) (15.4%, 15%, 15%, 10,2%, 5.2%, 5%, 3% y 1.6% respectivamente).

El 0% de resistencia obtenido en este estudio es esperado ya que se ha reportado que este antibiótico no es utilizado en la terapia de las enfermedades infecciosas de las aves ya que ha sido prohibido en animales para consumo humano ((Ruíz y col., 2006; Briceño y col., 2010). Sin embargo, es preocupante que en otros estados de Venezuela si se ha obtenido resistencia, lo que indica que posiblemente o se esté usando de manera ilegal o esté ocurriendo una transferencia genética u otras fuentes de contaminación e infección por *Salmonella*, que entran en contacto con las aves o alimentos (Briceño y col., 2010).

❖ **Otros**

➤ Trimetoprima-sulfametoxazol

A continuación se muestra en la tabla #14 las medidas obtenidas de los halos de inhibición para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol.

Tabla #14: Medidas de los halos de inhibición obtenidos para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol y clasificación de la susceptibilidad para la cepa pura, cepa control y las 9 cepas aisladas.

Cepas	Longitud obtenida del halo (mm)										
	Cepa pura ¹	Cepa control ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	20	28	20	0	0	18	0	22	0	0	22
22	28	22	8	0	19	0	21	0	0	21	
Promedio	21	28	21	4	0	18.5	0	21.5	0	0	21.5
Clasificación	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S

S: Sensible, R: Resistente

¹ Cepa pura: *Salmonella* spp.

² Cepa control: *E. coli* ATCC 25922.

Las cepas #2, #3, #5, #7 y #8 presentaron halos de inhibición menores a 10mm, por lo tanto fueron clasificadas como resistentes, en cambio la cepa pura junto a las cepas #1, #4, #6 y #9 presentaron halos de longitud mayores a 16 mm, siendo clasificadas como sensibles. La cepa control dio medidas de halos de inhibición que se encuentran entre los límites establecidos para este antibiótico (23-29 mm). Finalmente se obtuvo para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol un 55.56% de resistencia.

El 55.56% de resistencia que se obtuvo al antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol fue menor al presentado en el Estado Mérida por Molina y col. (2010) y en Nepal por Shrestha y col. (2010) (100% y 69.2% respectivamente). En el Estado Aragua, Sandoval y col. (1995) reportaron un porcentaje de resistencia menor (8.5%).

En otros países como Brasil, Estados Unidos y Portugal se han reportado porcentajes menores a los obtenidos, como lo indican los valores obtenidos por Duarte y col. (2009), White y col. (2001) y Antunes y col. (2003) (5.2%, 5% y 3% respectivamente). En países como Colombia y España no se ha reportado resistencia para este antibiótico (Mantilla y col., 2010; Carramiñana y col., 2004).

En general, el porcentaje obtenido en dicho estudio de aislamientos resistentes a uno o más antibióticos (88.89% de cepas aisladas) es elevado, lo cual nos indica que casi la totalidad de las cepas que se aislaron de las vísceras de pollo son resistentes al menos a un antibiótico. Con estos resultados se intuye que en Venezuela, probablemente, existe un amplio uso de antibióticos en la avicultura lo cual está generando resistencia. Además se obtuvieron cepas intermedias, indicándonos que es posible que el porcentaje de resistencia

siga aumentando. Este porcentaje se aproxima al obtenido por Sandoval y col. (1995) en el Estado Aragua (81.6%).

En países como México, Portugal y Estados Unidos se han reportado porcentajes de aislamientos resistentes a uno o más antibióticos menores a los obtenidos en este estudio, como los resultados señalados por Camacho y col. (2010), Antunes y col. (2003) y White y col. (2001) (71%, 75% y 84% respectivamente). En España, Turquía, Nepal y Brasil se han obtenido porcentajes mayores, como los reportados por Carramiñana y col. (2004), Yildirim y col. (2011), Shrestha y col. (2010) y Duarte y col. (2009) (100%, 100%, 100% y 94.7% respectivamente).

Las diferencias y semejanzas observadas en todas las investigaciones citadas, en cuanto a la resistencia a los diferentes antibióticos de cepas de *Salmonella*, probablemente se deban a distintas regulaciones para el uso de antibióticos, así como a diferencias en su manejo en los distintos países (dosis, uso profiláctico o clínico, etc.), al año en el cual se produjo el estudio y a la serovariedad de *Salmonella* (Briceño y col., 2007).

La alta frecuencia de resistencia encontrada y el riesgo que existe de que estas cepas lleguen al hombre a través de la cadena alimentaria, subrayan la necesidad urgente de reglamentar y vigilar el uso de los antibióticos en la industria pecuaria y dar seguimiento al comportamiento, que bacterias como *Salmonella*, presentan a los diversos antibióticos empleados en las poblaciones humana y animal.

Los alimentos son la fuente principal de exposición a agente físicos, químicos o biológicos, esta contaminación conduce a riesgos para la salud de los consumidores. Un alimento inocuo es aquel que no genera efectos adversos sobre la salud. La presencia de

Salmonella en alimentos de origen avícola altera la inocuidad no sólo por el peligro microbiológico que constituye, sino por el uso indiscriminado de antibióticos para tratar las infecciones en aves.

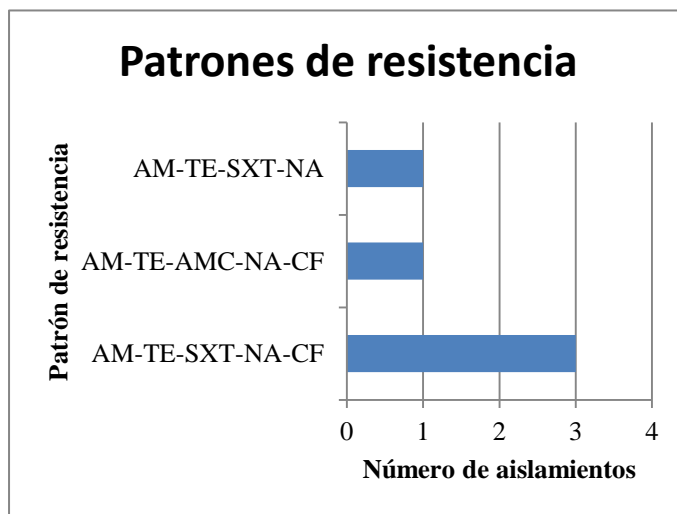
5.3 Análisis de la multirresistencia

La tabla #15 muestra los patrones de resistencia obtenidos para cada antibiótico. De las 9 cepas evaluadas, 5 presentaron un índice de MAR > a 0.2, indicándonos que un 55.56% de las cepas evaluadas son multirresistentes. Se obtuvieron 3 patrones de resistencia diferentes, los cuales fueron: AM-TE-SXT-NA-CF, AM-TE-AMC-NA-CF y AM-TE-SXT-NA. La figura #17 muestra el número de aislamientos multirresistentes obtenidos para cada patrón de resistencia obtenido.

Tabla #15: Patrón de resistencia e índice de multirresistencia a antibióticos obtenido en 5 de las 9 cepas aisladas.

Cepa aislada (#)	Patrón de resistencia	Índice de MAR
2	AM-TE-SXT-NA-CF	0.45
3	AM-TE-SXT-NA-CF	0.45
5	AM-TE-SXT-NA-CF	0.45
6	AM-TE-AMC-NA-CF	0.45
7	AM-TE-SXT-NA	0.36

AM: ampicilina, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol, NA: ácido nalidíxico, CF: cefalotina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico.



AM: ampicilina, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol, NA: ácido nalidíxico, CF: cefalotina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico.

Figura #17: Número de aislamientos multirresistentes para cada uno de los patrones de resistencia obtenidos.

La multirresistencia obtenida en dicho estudio (55.56%) es relativamente menor a la reportada en otros estados del país. En el Estado Zulia, Briceño y col. (2007) reportaron un 65% de cepas multirresistentes.

En España e Irán también se han obtenido porcentajes un poco mayores, como los reportados por Carramiñana y col. (2004) y Dallal y col. (2010) (65.4% y 68.5% respectivamente). En Nepal y Turquía se ha obtenido casi la totalidad de las cepas multirresistentes como los resultados reportados por Shestha y col. (2010) y Yildirim y col. (2011) (97% en ambos casos).

El uso indiscriminado de antibióticos en la producción de aves de corral y huevos ha incrementado la aparición y mantenimiento de bacterias multirresistentes. Esto junto con la facilidad de transferencia de plásmidos entre las especies bacterianas han sido señalados

como probables responsables de la selección de cepas que presentan resistencia a uno o varios antibióticos (Singh y col., 2010).

Los programas destinados a mejorar la higiene en la industria, el desarrollo de mejores métodos de procesamiento de alimentos y esfuerzos en reducir el uso de antibióticos en la producción diaria, disminuirían la transferencia de patógenos como *Salmonella* a los consumidores y por lo tanto se reducirían los casos de salmonelosis causados por *Salmonella* resistente y multirresistente a antibióticos (Sørum y L'Abée, 2002).

Es importante considerar el riesgo de que cepas de *Salmonella* resistentes provenientes de aves, pueden estar llegando a otras especies animales no consideradas en este estudio, esto debido al empleo de desechos de aves para alimentación de bovinos y de vísceras para alimentación de cerdos, lo que pudiese agravar la situación de multirresistencia a nivel de especies animales de abasto (Briceño y col., 2007). Además los huevos pueden adquirir estos patógenos multirresistentes a través de la transmisión transovárica antes de la deposición de la cáscara.

La evaluación de la susceptibilidad a los antibióticos de bacterias aisladas de animales y de humanos; debe realizarse periódicamente, para conocer la evolución de estas y de ser necesario tomar medidas correctivas en el uso de los antibióticos. Para realizar un seguimiento a la evolución de la resistencia de las bacterias a los antibióticos, no sólo se deben evaluar las bacterias causantes de enfermedades; sino también, las bacterias no patógenas que afectan a animales y humanos. Estas bacterias no patógenas también adquieren la resistencia por la presión de selección al uso de los antibióticos y podrán ser

evaluadas en el tiempo y servir de indicadores epidemiológicos de la evolución de resistencias de las bacterias a los antimicrobianos (Ruíz y col., 2006).

5.4 Detección de la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico **(CMI)**

Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias sólo en aquellas cepas que fueron clasificadas como sensibles e intermedias mediante el método disco difusión. En la tabla #16 se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias obtenidas para cada antibiótico, la clasificación de la susceptibilidad y el porcentaje de cepas.

Tabla #16: Concentración mínima inhibitoria obtenida para cada antibiótico y para cada cepa, clasificación de la susceptibilidad y el porcentaje de cepas.

Antibiótico	Resultado C.M.I (µg/mL)	Cepas	Clasificación susceptibilidad	Porcentaje de cepas (%)
AN	≤0.0625	1, 3, 4, 5, 8, 9	SENSIBLE	100
	0.125	2	SENSIBLE	
	0.5	6 y 7	SENSIBLE	
GN	0.125	5	SENSIBLE	100
	0.5	1,2,3,4,7	SENSIBLE	
	1	6,8	SENSIBLE	
	4	9	SENSIBLE	
AM	0.5	1,4,8,9	SENSIBLE	44.44
AMC	1/0.14	1,7	SENSIBLE	44.44
	2/0.29	8,9	SENSIBLE	
	16/2.29	2,5	INTERMEDIA	22.22
	64/9.14	3	RESISTENTE	11.11
CAZ	0.125	9	SENSIBLE	55.55
	0.25	7	SENSIBLE	
	1	4	SENSIBLE	
	8	2,5	SENSIBLE	
	16	1,3,8	INTERMEDIA	33.33
CF	≤0.065	1,4,7,8,9	SENSIBLE	55.55
TE	0.125	1	SENSIBLE	11.11
CIP	0.125	9	SENSIBLE	66.66
	0.5	6,8	SENSIBLE	
	1	1,2,7	SENSIBLE	
	2	4	INTERMEDIA	11.11
	4	3,5	RESISTENTE	22.22
CL	≤0.0625	1,4,8,9	SENSIBLE	100
	1	7	SENSIBLE	
	2	2,3,5,6	SENSIBLE	
SXT	1.6/8	1,6	SENSIBLE	44.44
	3.2/16	9	SENSIBLE	
	6.4/32	4	SENSIBLE	

AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

Para el antibiótico amikacina, todas las cepas presentaron concentraciones mínimas menores a 0.0625 $\mu\text{g/mL}$ y hasta 0.5 $\mu\text{g/mL}$. Según el manual de la CLSI son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor a 16 $\mu\text{g/mL}$. Las 9 cepas probadas se clasificaron como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos aplicados. Ruíz y col. (2001) obtuvieron en Colombia concentraciones mínimas mayores a las obtenidas en este estudio (Entre 2 y 4 $\mu\text{g/mL}$).

Para el antibiótico gentamicina se obtuvieron concentraciones mínimas en un rango entre 0.125 y 4 $\mu\text{g/mL}$. Según el manual de la CLSI las cepas son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 4 $\mu\text{g/mL}$. Las 9 cepas probadas se clasificaron como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos. Ruíz y col. (2001) obtuvieron en Colombia concentraciones mínimas comprendidas en el rango obtenido en este estudio (1 y 2 $\mu\text{g/mL}$).

Las concentraciones mínimas inhibitorias para el antibiótico ampicilina fueron iguales a 0.5 $\mu\text{g/mL}$. Según el manual de la CLSI las cepas son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 8 $\mu\text{g/mL}$. Las 4 cepas probadas (cepas #1, #4, #8 y #9) se clasificaron como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos. Ruíz y col. (2001) reportaron en Colombia concentraciones mínimas cercanas a las obtenidas en este estudio (menores a 0.25 y hasta 0.5 $\mu\text{g/mL}$).

Se obtuvieron para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico concentraciones mínimas en un rango entre 1/0.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 64/9.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Según el manual de la CLSI las cepas son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 8/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, como intermedia si la concentración mínima es igual a 16/8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y como resistentes si la concentración mínima es mayor o igual a 32/16 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Las proporciones entre el compuesto amoxicilina-ácido clavulánico del antibiótico utilizado son distintas a las proporciones que contenían los discos, debido a esta diferencia los resultados fueron discutidos sólo en base al compuesto que se encontraba en mayor proporción (amoxicilina).

De las 7 cepas probadas, 4 de ellas (cepas #1, #7, #8 y #9) presentaron concentraciones mínimas entre 1 y 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, siendo clasificadas como sensibles según este método. Las cepas #1, #8 y #9 presentaron los mismos resultados que con el método de disco difusión; es decir, se clasificaron como sensibles, en cambio la cepa #7 difiere ya que ella fue clasificada como intermedia mediante el método de disco difusión y no como sensible. La cepa #2 y la #5 presentaron concentraciones mínimas iguales a 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ siendo clasificadas como intermedias según este método, lo cual coincide con la clasificación obtenida mediante método de disco difusión y la cepa #3 presentó una concentración mínima igual a 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, siendo clasificada como resistente difiriendo de los resultados obtenidos en el método disco difusión, ya que la misma fue valorada con dicho método como intermedia. El 71.43% de las cepas presentaron los mismos resultados que los obtenidos con el método de disco difusión.

Posiblemente las diferencias obtenidas entre el método de microdilución y el método de disco difusión con este antibiótico se deba a las distintas proporciones de estos compuestos. El antibiótico utilizado en este método posee una menor proporción de ácido

clavulánico que los discos de antibióticos (relación 1/7 con respecto a 1/2 de los discos). Posiblemente esta cantidad de ácido clavulánico no sea suficiente para inhibir a las 6 cepas probadas y por esto surgen, mediante este método, cepas intermedias y resistentes las cuales no se evidenciaron mediante el método de disco difusión. Se recuerda que el ácido clavulánico aumenta el espectro y la estabilidad del antibiótico.

Se obtuvieron concentraciones mínimas para el antibiótico ceftazidime comprendidas en un rango entre 0.125 y 16 $\mu\text{g/mL}$. Según el manual de la CLSI las cepas son valoradas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 8 $\mu\text{g/mL}$ y como intermedias si la concentración mínima es igual a 16 $\mu\text{g/mL}$. De las 8 cepas probadas, 5 de ellas (cepa #2, #4, #5, #7 y #9) presentaron concentraciones mínimas entre 0.125 y 8 $\mu\text{g/mL}$, siendo clasificadas como sensibles según este método. Las cepas #4, #7 y #9 presentaron los mismos resultados que con el método de disco difusión; es decir, se clasificaron como sensibles, en cambio las cepas #2 y #5 difieren ya que ellas fueron valoradas como intermedias mediante el método de disco difusión y no como sensibles. Las cepas #1, #3 y #8 presentaron concentraciones mínimas iguales a 16 $\mu\text{g/mL}$, siendo clasificadas como intermedias, esta clasificación obtenida por este método para estas cepas difiere del resultado obtenido en el método disco difusión, ya que las mismas fueron clasificadas como sensibles y no como intermedias. El 37.5% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos. Ruíz y col. (2001) obtuvieron en Colombia concentraciones mínimas comprendidas en el rango obtenido en este estudio (menores a 8 $\mu\text{g/mL}$).

Para el antibiótico cefalotina se obtuvieron concentraciones mínimas menores a 0.0625 $\mu\text{g/mL}$. Según el manual de la CLSI las cepas son valoradas como sensibles si la

concentración mínima es menor o igual a 8 µg/mL. Las 5 cepas probadas (cepas #1, #4, #7, #8 y #9) se clasificaron como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos. Ruíz y col. (2001) obtuvieron en Colombia concentraciones mínimas mayores a las obtenidas en este estudio (menores o iguales a 2 µg/mL).

Para el antibiótico tetraciclina se obtuvo una concentración mínima igual a 0.125µg/mL. Según el manual de la CLSI las cepas son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 4 µg/mL. La única cepa probada (cepa 1) se catalogó como sensible según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. Por lo tanto, la cepa presentó el mismo resultado en los dos métodos utilizados.

Para el antibiótico ciprofloxacina se obtuvieron concentraciones mínimas en un rango entre 0.125 y 4 µg/mL. Según el manual de la CLSI las cepas son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 1 µg/mL, como intermedias si la concentración mínima es igual a 2 µg/mL y como resistentes si la concentración mínima es igual o mayor a 4 µg/mL. De las 9 cepas probadas, 6 de ellas (cepa #1, #2, #6, #7, #8 y #9) presentaron concentraciones mínimas entre 0.125 y 1 µg/mL, siendo clasificadas como sensibles según este método. Las cepas #1, #6, #7 y #8 generaron resultados iguales a los obtenidos con el método de disco difusión; es decir, fueron valoradas como sensibles, mientras que las cepas #2 y #9 difieren, ya que ellas fueron clasificadas como intermedias mediante el método de disco difusión y no como sensibles. La cepa #4 presentó una concentración mínima igual a 2 µg/mL, siendo catalogada como intermedia, esto difiere de

la clasificación dada mediante el método de disco difusión, ya que la misma fue clasificada como sensible. Las cepas #3 y #5 presentaron concentraciones mínimas iguales a 4 µg/mL, siendo catalogadas como resistentes lo cual difiere de la clasificación obtenida mediante el método de disco difusión, ya que las mismas fueron clasificadas como intermedias. El 44.44% de las cepas presentaron los mismos resultados que los obtenidos con el método de disco difusión. Ruíz y col. (2001) obtuvieron en Colombia concentraciones mínimas comprendidas en el rango obtenido en este estudio (menores a 0.5 µg/mL).

Se obtuvieron concentraciones mínimas para el antibiótico cloranfenicol menores a 0.0625 y hasta 2 µg/mL. Según el manual de la CLSI son catalogadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 8 µg/mL. Las 9 cepas se clasificaron como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados en ambos métodos.

Para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol se obtuvieron concentraciones mínimas en un rango entre 1.6/8 y 6.4/32 µg/mL. Según el manual de la CLSI son clasificadas como sensibles si la concentración mínima es menor o igual a 2/38 µg/mL. Las proporciones entre el compuesto trimetoprima-sulfametoxazol del antibiótico utilizado son distintas a las proporciones que contenían los discos, debido a esta diferencia los resultados fueron discutidos en base al compuesto que se encontraba en mayor proporción (Sulfametoxazol). Las 4 cepas probadas (cepa #1, #4, #6 y #9) presentaron concentraciones mínimas menores a 38 µg/mL, siendo valoradas como sensibles según este método, lo cual coincide con los resultados obtenidos con el método disco difusión. El 100% de las cepas presentaron los mismos resultados que los obtenidos con el método de disco difusión.

A pesar de la diferencia, en cuanto a proporciones de los compuestos trimetoprima-sulfametoxazol entre el antibiótico utilizado en el método de microdilución y la proporción de los discos utilizados en el método de disco difusión, los resultados obtenidos en los dos métodos fueron los mismos.

En general, los resultados de ambos métodos fueron similares a los obtenidos mediante el método de disco difusión. El 100% de las cepas probadas para los antibióticos amikacina, gentamicina, ampicilina, cefalotina, tetraciclina, cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol presentaron los mismos resultados que con método de disco difusión. Para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico, el 71.43% de las cepas presentaron los mismos resultados que con el método de disco difusión, lo cual sigue siendo un porcentaje alto. Sin embargo, para los antibióticos ceftazidime y ciprofloxacina, sólo el 37.5% y 44.44% respectivamente, presentaron los mismo resultados que con el método de disco difusión.

Posiblemente las diferencias obtenidas por ambos métodos se deban al empleo de fármacos comerciales adquiridos en farmacia los cuales es posible que no tengan la misma estabilidad que los antibióticos recomendados para este método.

5.5 Análisis estadístico de los resultados

- Comparación de los resultados obtenidos en la longitud de los halos de inhibición de las 9 cepas aisladas con respecto a la cepa pura de *Salmonella* spp.

Se muestra en la tabla #17, los halos de inhibición para las cepas aisladas y la cepa pura de *Salmonella* spp. para cada antibiótico probado, junto con la probabilidad obtenida para cada uno (Ver anexos 9.4).

Tabla #17: Medidas de halos de inhibición obtenidas para las 9 cepas aisladas y para la cepa pura de *Salmonella* spp., junto con la probabilidad obtenida para cada antibiótico.

¹ Ant	Cepas	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)									² P
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
AN	Cepas aisladas	21.5	21	22	19	23	23.5	22.5	22.5	21	0.01178
	³ Cepa pura	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	
GN	Cepas aisladas	20.5	17	23.5	16	17	21.5	21	16	22	0.90932
	Cepa pura	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	
AM	Cepas aisladas	20	0	4	21	0	0	0	22	22	0.00112
	Cepa pura	24.5	24.5	24.5	24.5	24.5	24.5	24.5	24.5	24.5	
AMC	Cepas aisladas	26	15.5	17	22.5	14	9.5	16.5	25	24.5	0.00118
	Cepa pura	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	
CAF	Cepas aisladas	24.5	17	18	22	17	14	25.5	21	24.5	0.00038
	Cepa pura	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	
CF	Cepas aisladas	20.5	8	0	19	0	0	18	22	19	0.00871
	Cepa pura	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	
TE	Cepas aisladas	18	0	4	0	0	4	0	0	0	6.24x10 ⁻⁸
	Cepa pura	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	
CIP	Cepas aisladas	32.5	17	17	22	17.5	26	24	25	18.5	1.33x10 ⁻⁵
	Cepa pura	33	33	33	33	33	33	33	33	33	
NA	Cepas aisladas	23	8	0	13	0	7.5	7.5	16.5	0	5.12x10 ⁻⁵
	Cepa pura	23	23	23	23	23	23	23	23	23	
CL	Cepas aisladas	26.5	18	20.5	23	18	25	20	21	24	0.242601
	Cepa pura	23	23	23	23	23	23	23	23	23	
SXT	Cepas aisladas	21	4	0	18.5	0	21.5	0	0	21.5	0.00518
	Cepa pura	21	21	21	21	21	21	21	21	21	

AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, NA: ácido nalidíxico, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

¹Ant: Antibióticos.

²P: Probabilidad.

³Cepa pura: *Salmonella* spp.

Para los antibióticos amikacina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, ceftazidime, cefalotina, tetraciclina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico y trimetoprima-sulfametoxazol se obtuvieron probabilidades menores a 0.05, rechazándose la hipótesis planteada, es decir, hay diferencia significativa entre los halos de las cepas aisladas con la cepa pura de *Salmonella* spp. Debido a que tanto las cepas aisladas como la cepa pura, pertenecen al mismo género, podría esperarse resultados similares en las longitudes de los halos, sin embargo, se presentan diferencias debido a la adquisición de resistencia de estas cepas evaluadas, en cambio la cepa pura presentó sensibilidad a todos los antibióticos.

Por el contrario, para los antibióticos gentamicina y cloranfenicol se obtuvieron probabilidades mayores a 0.05, aceptándose la hipótesis planteada, es decir, no hay diferencia significativa entre los halos obtenidos en las cepas aisladas con la cepa pura de *Salmonella* spp. Esto es esperado ya que no se presentó resistencia a estos antibióticos, por lo cual los halos de inhibición de las 9 cepas aisladas con respecto a la cepa pura fueron similares.

- Comparación de los resultados obtenidos en las longitudes de los halos de inhibición entre las 9 cepas aisladas.

Se muestra en la tabla #18, los halos de inhibición obtenidos para cada antibiótico en las 9 cepas aisladas, junto con la probabilidad obtenida (Ver anexos 9.5).

Tabla #18: Medidas de halos de inhibición obtenidas para cada antibiótico en las 9 cepas aisladas, junto con la probabilidad obtenida.

¹ Ant	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)									² P
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
AN	21.5	21	22	19	23	23.5	22.5	22.5	21	0.01136
GN	20.5	17	23.5	16	17	21.5	21	16	22	
AM	20	0	4	21	0	0	0	22	22	
AMC	26	15.5	17	22.5	14	9.5	16.5	25	24.5	
CAF	24.5	17	18	22	17	14	25.5	21	24.5	
CF	20.5	8	0	19	0	0	18	22	19	
TE	18	0	4	0	0	4	0	0	0	
CIP	32.5	17	17	22	17.5	26	24	25	18.5	
NA	23	8	0	13	0	7.5	7.5	16.5	0	
CL	26.5	18	20.5	23	18	25	20	21	24	
SXT	21	4	0	18.5	0	21.5	0	0	21.5	

AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, NA: Ácido nalidíxico, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

¹Ant: Antibióticos.

²P: Probabilidad.

Se obtuvo una probabilidad igual a 0.01136, la cual es menor a 0.05. Esto significa que se rechaza la hipótesis planteada, es decir, si hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos en las longitudes de halos de inhibición entre las 9 cepas entre sí. Esto probablemente se deba a diferencias en las serovariedades o serogrupos de las 9 cepas aisladas o a diferencias en la presión selectiva a la cual han estado expuestas dichas cepas a

lo largo de la cadena alimentaria lo cual genera variaciones entre ellas en la susceptibilidad a un antibiótico determinado.

- Comparación de resultados obtenidos entre el método de disco difusión y el método de microdilución.

Se muestra en la tabla #19, los porcentajes de cepas intermedias y sensibles tanto con el método de disco difusión como con el método de microdilución, junto con la probabilidad obtenida (Ver anexos 9.6).

Tabla #19: Porcentajes obtenidos de cepas intermedias y cepas sensibles tanto con el método de disco difusión como con el método de microdilución, junto con la probabilidad obtenida.

Antibióticos	Porcentaje de cepas intermedias (%)		Porcentaje de cepas sensibles (%)	
	MDD ¹	MMD ²	MDD	MMD
AN	0	0	100	100
GN	0	0	100	100
AM	0	0	44.44	44.44
AMC	44.44	22.22	44.44	44.44
CAF	22.22	33.33	66.66	55.55
CF	0	0	55.55	55.55
TE	0	0	11.11	11.11
CIP	44.44	11.11	55.56	66.66
CL	0	0	100	100
SXT	0	0	44.44	44.44
Probabilidad	0.537		0.999	

AN: amikacina, GN: gentamicina, AM: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAF: ceftazidime, CF: cefalotina, TE: tetraciclina, CIP: ciprofloxacina, CL: cloranfenicol, SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

¹MDD: Método de disco difusión

²MMD: Método de microdilución

Para las cepas intermedias, se obtuvo una probabilidad igual a 0.537 y para las cepas sensibles una probabilidad igual a 0.999, ambas probabilidades son mayores a 0.05 (Ver anexos 9.6). Esto significa que en ambos casos, se acepta la hipótesis planteada, es decir, no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos entre el método de disco difusión con los obtenidos con el método de microdilución.

Estos resultados indican que ambos métodos pueden ser utilizados para determinar la susceptibilidad de una cepa a un cierto antibiótico. La diferencia es que el método de disco difusión es un método cualitativo en el cual sólo se puede clasificar la susceptibilidad de la cepa. Éste es el método más utilizado en los laboratorios de microbiología y es el que se encuentra estandarizado y recomendado por el manual de la CLSI (Cona, 2002). En cambio, el método de microdilución es un método cuantitativo que determina el valor exacto de la concentración mínima inhibitoria del antibiótico, lo cual es necesario en algunos casos para predecir la eficacia in vivo del compuesto en el tratamiento de una enfermedad específica, y en caso de ser necesario, los veterinarios pueden replantear el esquema terapéutico de acuerdo al patrón de sensibilidad desarrollado (Ruíz y col., 2001).

6. CONCLUSIONES

❖ Se logró el aislamiento e identificación de 9 cepas de *Salmonella* en 32 muestras de vísceras analizadas, lo cual representa un 28,13%. Este porcentaje nos indica que 1 de cada 4 muestras de vísceras de pollo pueden estar infectadas por este patógeno, lo que significa que se está generando la introducción y multiplicación de este microorganismo en alguno de los pasos de la cadena productiva avícola.

❖ Se obtuvo un 88.89% de cepas resistentes a uno o más antibióticos, lo que indica que casi la totalidad de las cepas aisladas en vísceras de pollo, son resistentes al menos a un antibiótico. Por lo tanto, se intuye que hay un alto uso de antibióticos en la avicultura, ya sea con fines profilácticos, terapéuticos o como promotores de crecimiento, los cuales están induciendo el desarrollo de patógenos resistentes, en pollos, que pueden ser transmitidos a los consumidores a través de la cadena alimentaria y por ende puede disminuir la eficiencia de antibióticos aplicados en humanos si estos genes de resistencia se incorporan en las poblaciones bacterianas humanas.

❖ Se obtuvo un 88.89% de cepas resistentes al antibiótico tetraciclina, un 77.78% al ácido nalidíxico, un 55,56% para los antibióticos ampicilina y trimetoprima-sulfametoxazol, un 44.44% para cefalotina y un 11.11% para amoxicilina-ácido clavulánico y ceftazidime. Por el contrario, no se observó resistencia para los antibióticos amikacina, gentamicina, ciprofloxacina y cloranfenicol. Para los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, ciprofloxacina y ceftazidime se encontraron cepas intermedias, con valores

entre 11.11% y 44.44%, esto significa que es posible que el porcentaje de resistencia obtenido para estos antibióticos en este estudio aumente en un futuro.

❖ No hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre los métodos evaluados durante este estudio, método de disco difusión y método de microdilución, indicándonos que ambos métodos pueden ser utilizados para determinar la susceptibilidad de una cepa a un antibiótico determinado.

❖ Se obtuvo un 55.56% de cepas multirresistentes a antibióticos, lo que significa que más de la mitad de las cepas que se aislaron de las vísceras de pollo presentan multirresistencia.

❖ La cepa pura de *Salmonella* spp. no presentó resistencia ni multirresistencia a ninguno de los antibióticos utilizados en este estudio, lo cual nos confirma, de algún modo, que los genes de resistencia para este tipo de droga pueden estar adquiriéndose en la industria avícola, debido a las razones antes expuestas.

7. RECOMENDACIONES

❖ Se hace necesario realizar la identificación serológica somática O y polivalente flagelar H de las 9 cepas de *Salmonella* spp. aisladas para lograr una identificación más específica y así poder determinar las serovariedades predominantes en esta materia prima.

❖ Se recomienda realizar el aislamiento e identificación de cepas de *Salmonella* resistente a antibióticos en otras materias primas debido a su presencia en una gran variedad de alimentos los cuales han estado implicados como vehículos de transmisión de salmonelosis a humanos.

❖ Sobre la base de los resultados obtenidos, es prioritario recomendar el uso prudente de los antimicrobianos, así como la determinación de las dosis adecuadas, a fin de preservar estos valiosos medicamentos para su uso en los animales y seres humanos.

❖ Asimismo, es necesario establecer sistemas de vigilancia estandarizados, que permitan determinar la aparición de resistencias entre los alimentos de origen animal.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Andrews, J. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemoth.* **48**: 5-16.
- Antunes, P., Réu, C., Sousa, J., Peixe, L., Pestana, N. 2003. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int J Food Microbiol.* **82**: 97-103.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J., Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol.* **45**: 493-496.
- Briceño, E., Ascanio, E., Riera, J., Arrieta, D., Flores, S., Maniglia, G. 2010. Evidencias de residuos de cloranfenicol en muestras de riñón de cerdos de la región Central de Venezuela. *Rev. Cient.* **20(3)**: 254:258.
- Briceño, L., Narváez, C., Rodas, A., Wittum, T., Hoet, A. 2007. Resistencia a las Fluoroquinolonas y Otros Antimicrobianos en Cepas de *Salmonella* spp. Aisladas en el Procesamiento de Pollo Entero. *Rev. Cient.* **17(5)**:521-528.
- Boscán, L., Arzálluz, A., Ugarte, C., Sánchez, D., Díaz, D., Wittum, T., Hoet, A. 2005. Aislamiento de salmonellas de importancia zoonótica en vísceras de pollo beneficiados en el estado Zulia, Venezuela. *Rev Cientif FCV-LUZ.* **15(6)**:576-582.
- Cabrera, C., Gómez, R., Zúñiga, A. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med.* **38**: 149-158.
- Camacho, O., Acedo, L., Moreno, G., Sánchez, R. 2010. Detección de *Salmonella* resistente a los antibióticos en vísceras de pollo. *BIOtecnia.* **12(1)**: 3-11.

- Campos, J., Baquero, F. 2002. Resistencia a antibióticos: ¿Qué hacer ahora?. *Med Clin.* **119(17)**:656-658.
- Carramiñana, J., Rota, C., Agustín, I., Herrera, A. 2004. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Vet Microbiol.* **104**: 133-139.
- Clinical and Laboratory standards institute (CLSI). 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Wayne, Pennsylvania.
- Cona, E. 2002. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev Chil Infect.* **19(2)**:77-81.
- COVENIN 1986. Norma N° 2343-86. Alimentos. Pollo beneficiado.
- COVENIN, 1988. Norma N° 1291-88. Alimentos. Aislamiento e identificación de *Salmonella*.
- CULTIMED. 2003. Manual básico de Microbiología. 4ta edición. Panreac Química S.A.
- Dallal, M., Doyle, M., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., Bakhtiari, R y colaboradores. 2010. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. *Food Control.* **21**: 388-392.
- Duarte, DA., Reginato, A., Mendes, AM., Barros, S., Vital, J., Arruda, PL., Pereira, L. 2009. Ocurrência of *Salmonella* spp. In broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. *Braz J Microbiol.* **40**: 569-573.

- Embid, A. 2009. Resistencia de las bacterias a los antibióticos. Revista Medicina Holística. **53**. <http://www.amcmh.org/PagAMC/medicina/articulospdf/53ResistenciaBacterias.pdf>. [Consulta: 15 de Abril de 2011].
- González, N., Saltigeral, P. 2001. Antimicrobianos, antivirales, antiparasitarios, antimicóticos e inmunomoduladores. 5ta edición. Editoril McGraw-Hill Interamericana. D.F, México.
- Gutiérrez, A., Paasch, L., Calderón, N. 2008. Salmonelosis y Campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Vet Méx.* **39(1)**: 81-90.
- Infante, D., Noguera, C., León, A., Catari, M., Herrera, A., Valdillo, P. 1994. Aislamiento de *Salmonella* en Canales de Pollos. *Vet Tropical.* **19**: 91-99.
- Jay, J. 2002. Microbiología moderna de los alimentos. 4ta edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W. 1999. Diagnóstico microbiológico. Editorial médica panamericana. 5ta edición. Madrid, España.
- León, A., Infante, D., Noguera, C., Herrera, A., Valdillo, P. 1996. Detección de *Salmonella* sp. en pollos congelados en el Estado Aragua. *Vet Tropical.* **21(1)**:75-84.
- Lepe, JA., Garrido, A., Guerrero, F. 2003. Sensibilidad reducida a ciprofloxacina en los aislados de *Salmonella enterica* de la zona norte de Huelva. *Rev Esp Salud Pública.* **77(6)**: 761-764.
- Mandigan, M., Martinko, J., Parker, J. 2006. Brock. Biología de microorganismos. Editorial Pearson Prentice Hall. 10ma edición. España.

- Mantilla, J., Pulido, M., Jaime, J. 2010. Prueba de sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* grupo D (móviles e inmóviles) aisladas de ponedoras comerciales en Colombia. *Med Vet Zoot.* **57**: 168-177.
- Marín, M., Gudiol, F. 2003. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* **21(1)**:42-55.
- Mensa, J., Gatell, JM., Jiménez, MT., Prats, G. 1997. Guía terapéutica antimicrobiana. 7ma edición. Editorial Masson, S.A. Barcelona, España.
- Molina, N., Millan, B., Araque, M. 2010. Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella* entérica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. *Infect.* **14(3)**:174-185.
- Morillo, A., Rodríguez, S., Infante, D., Noguera, C., León, A., Herrera, A., Valdillo, P. 1996. Detección de *Salmonella* spp. en Alas y Vísceras Comestibles de Pollo. *Vet Trop.* **21(1)**:49-58.
- Pastor, R. 2006. Alteraciones del nicho ecológico: resistencias bacterianas a los antibióticos. *Gac Sanit.* **20**:175-181.
- Pérez, D. 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud.* **22(3)**: 57-67.
- Pérez, C., Rivera, S., Pirela, A., Rincón, H., Mavarez, Y., Román, R. 2004. Aislamiento de *Salmonella* en Canales de Aves y Evaluación de la efectividad de Diferentes Medios de Enriquecimiento y Selectivos. *Rev Cientif.* **14(2)**:177-185.
- Pigrau, C. 2003. Oxazolidinonas y glucopeptidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* **21(3)**:157-165.

- Reuben, A., Treminio, H., Arias, ML., Chaves C. 2003. Presencia de *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica. *Alan.* **53(4)**:389-392.
- Rosentul, D. 2006. Estudio comparativo de diferentes métodos rápidos con el método tradicional para la detección de *Salmonella* en alimentos. Tesis de licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Ruíz, J., Ramírez, N., Arroyave, O. 2001. Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros, Antioquía. *Rev Col Cienc Pec.* **14(2)**:143-154.
- Ruíz, J., Suarez, M., Uribe, C. 2006. Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de cepas de *Salmonella* spp. en granjas de ponedoras comerciales del departamento de Antioquía. *Rev Col Cienc Pec.* **19(3)**: 297-305.
- Salisbury, J., Nicholls, T., Lammerding, A., Turnidge, J., Nunn, M. 2002. A risk analysis framework for the long-term management of antibiotic resistance in food-producing animals. *Int J Antimicrob Ag.* **20**: 153-164.
- Sandoval, T., Infante, D., Noguera, C., León, A., Herrera, A., Valdillo, P. 1995. Acción *in vitro* de agentes antimicrobianos en cepa de *Salmonella* Gallinarum aisladas en Venezuela. *Vet Trop.* **20**:27-35.
- Schlundt, J. 2002. New directions in foodborne disease prevention. *Int J Food Microbiol.* **78**: 3-17.
- Schwaiger, K., Huther, S., Hölzel, C., Kämpf, P., Bauer, J. 2012. Prevalence of antibiotic resistant enterobacteriaceae isolated from chicken and pork meat

purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. *Int J Food Microbiol.*

- Seijas, Silvia. 1981. Sensibilidad y Resistencia de las Enterobacterias *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* a quimioterapéuticos de uso frecuente. Trabajo de ascenso. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Shrestha, A., Regmi, P., Dutta, R., Khanal, D., Aryal, S., Thakur, R., Karki, D y col. 2010. First report of antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from poultry in Nepal. *Vet Microbiol.* **144**: 522-524.
- Singh, S., Singh, A., Mohan, S., Bharti, P. 2010. Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. *Food Res Int.* **43(8)**:2027-2030.
- Sørum, H., L'Abée, T. 2002. Antibiotic resistance in food-related bacteria-a result of interfering with the global web of bacterial genetics. *Int J Food Microbiol.* **78**: 43-56.
- Stevens, A., Kaboré, Y., Perrier, J., Millemann, Y., Brisabois, A., Catteau, M., Cavin, J. y colaboradores. 2006. Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from beef sampled from the slaughterhouse and from retailers in Dakar. *Int J Food Microbiol.* **110**: 178-186.
- Torres, C., Zarazaga, M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. ¿Vamos por el buen camino?. *Gac Sanit.* **16**:109-112.
- Uribe, C., Suárez, MC. 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colomb Med.* **37(2)**:151-158.

- Vanegas, M., Correa, N., Morales, A., Martínez, A., Rúgeles, L., Jiménez, F. 2009. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. *Rev.MVZ Córdoba*. **14(2)**:1677-1683.
- White, D., Zhao, S., Simjee, S., Wagner, D., McDermott, P. 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes infect*. **4**: 405-412.
- White, D.; Zhao, S.; Sudler, R.; Ayers, S.; Friedman, S.; Chen, S.; McDermott, P y colaboradores. 2001. The Isolation of antibiotic-Resistant Salmonella from Retail Ground Meats. *N Engl J Med*. **345**:1147-1154.
- Wolff, Goldsmith, Katz, Gilchrest, Paller, Leffell. 2009. Fitzpatrick. Dermatología en Medicina General. 7ma edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- Yildirim, Y., Gonulalan, Z., Sebnem, P., Ertas, N. 2011. Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. on raw chicken carcasses. *Food Res Int*. **44**:725-728.
- Zhao, Shaohua., Datta A., Ayers, S., Friedman, S., Walker, R., White, D. 2002. Antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from imported foods. *Int J Food Microbiol*. **84**: 87-92.

Consultas en línea

- <http://www.inn.gob.ve/pdf/sisvan/hba2007.pdf> [Consulta: 19 de Abril de 2011].
- <http://www.mpps.gob.ve/Boletines/ETADEF.pdf> [Consulta: 30 de Abril de 2011].
- <ftp://ftp.fao.org/Codex/ccfh35/fh0305as.pdf> [Consulta: 05 de Octubre de 2011].
- http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com_content&view=article&id=549&Itemid=947 [Consulta: 5 de Febrero de 2011].

- <http://www.cdc.gov/search.do?q=salmonella&btnG.x=0&btnG.y=0&subset=mmwr&sort=date&oe=UTF-8&ie=UTF-8&ud=1&site=mmwr&site=mmwr> [Consulta: 13 de Febrero de 2012].
- <http://www.cdc.gov/search.do?action=search&direction=desc&queryText=salmonella&sort=date&subset=mmwr> [Consulta: 17 de Febrero de 2012].

9. ANEXOS

9.1 Diluciones realizadas a los antibióticos (presentación en polvo, pastilla o ampolla) para obtener concentraciones de 10.000, 1.000 y 100 $\mu\text{g/mL}$.

❖ Aminoglucósidos

➤ Amikacina

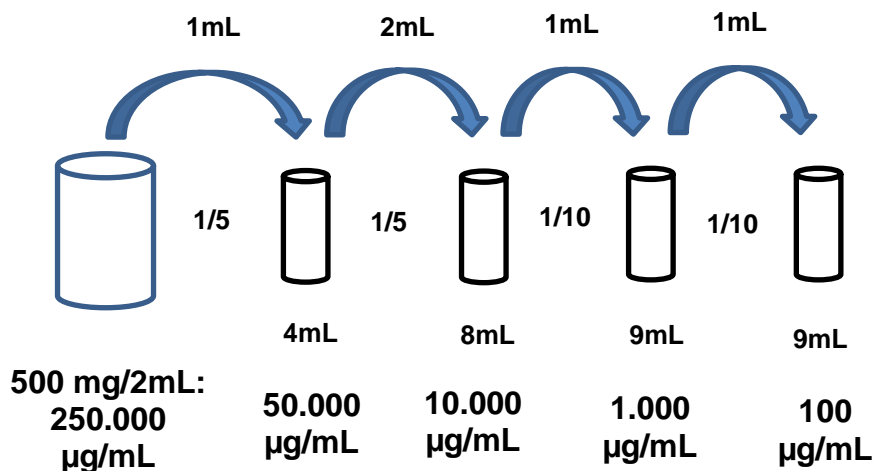


Figura #18: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico amikacina a partir de una solución madre de 250.000 $\mu\text{g/mL}$.

➤ Gentamicina

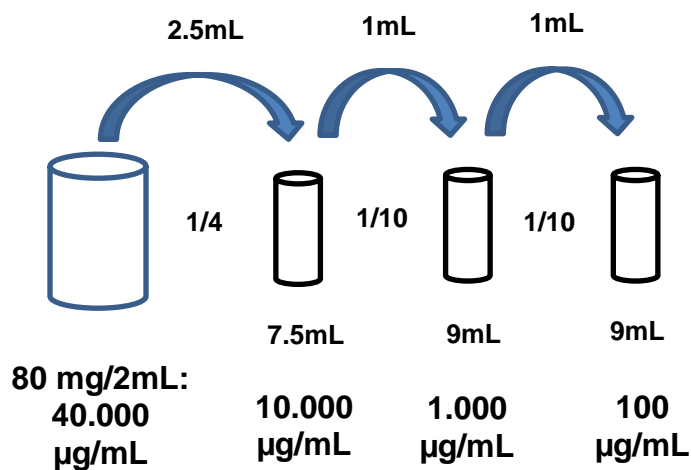


Figura #19: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico gentamicina a partir de una solución madre de 40.000 $\mu\text{g/mL}$.

❖ **Betalactámicos**

➤ Ampicilina

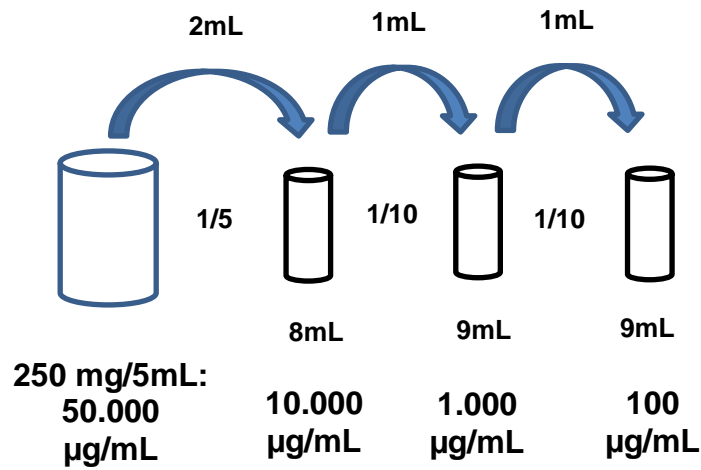


Figura #20: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico ampicilina a partir de una solución madre de 50.000 µg/mL.

➤ Amoxicilina-ácido clavulánico

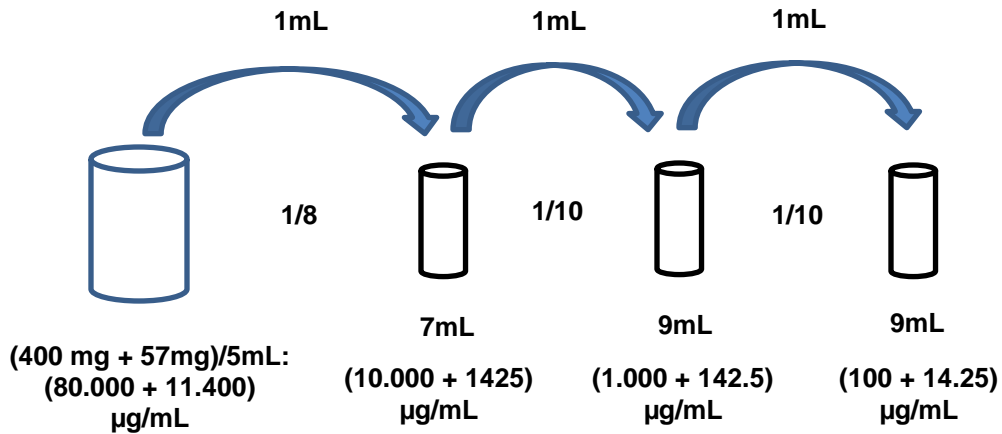


Figura #21: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico a partir de una solución madre de (80.000 + 11.400) µg/mL.

➤ Ceftazidime

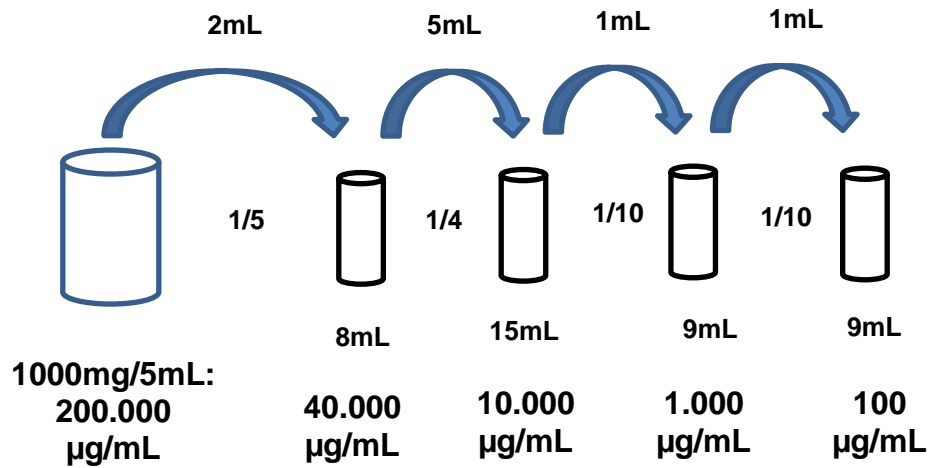


Figura #22: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico ceftazidime a partir de una solución madre de 200.000 µg/mL.

➤ Cefalotina

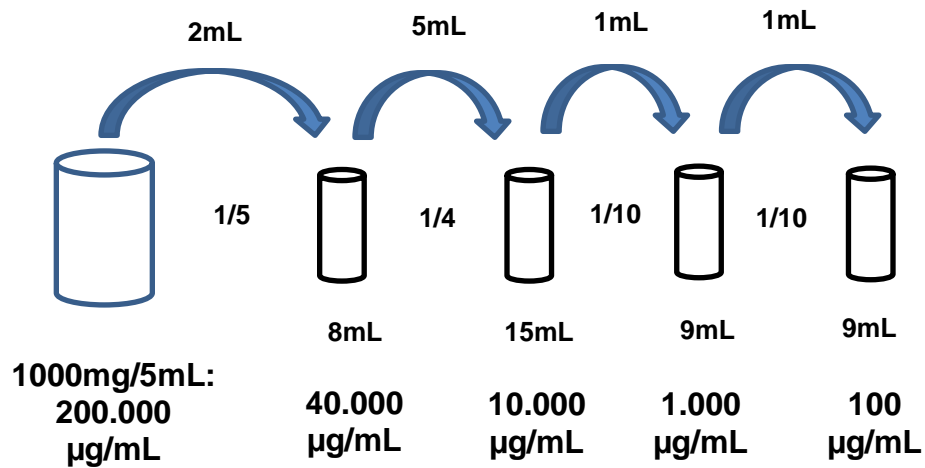


Figura #23: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico cefalotina a partir de una solución madre de 200.000 µg/mL.

❖ Tetraciclinas

➤ Tetraciclina

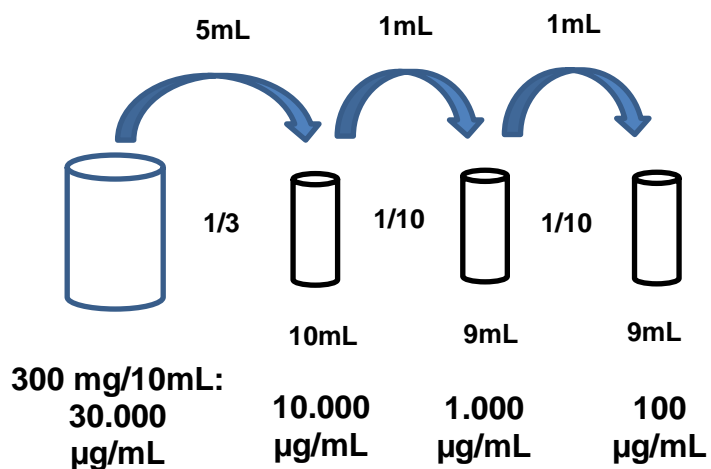


Figura #24: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico tetraciclina a partir de una solución madre de 30.000 µg/mL.

❖ Quinolonas

➤ Ciprofloxacina

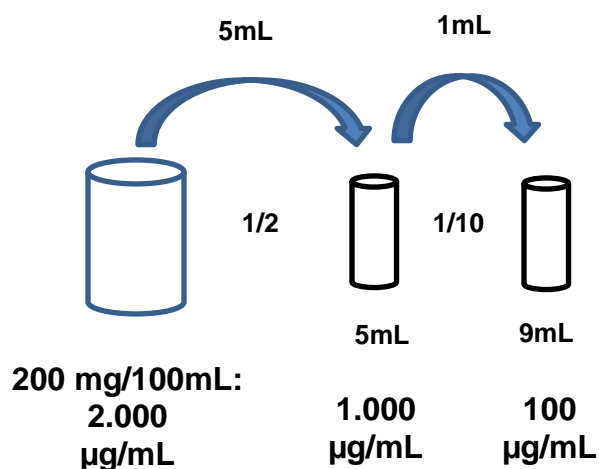


Figura #25: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico ciprofloxacina a partir de una solución madre de 2.000 µg/mL.

❖ Anfenicoles

➤ Cloranfenicol

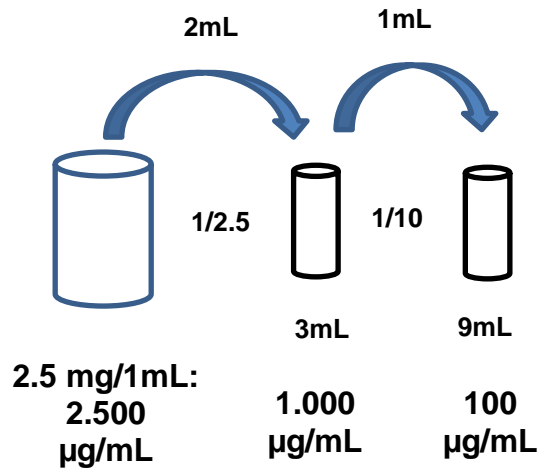


Figura #26: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico cloranfenicol a partir de una solución madre de 2.500 µg/mL.

❖ Otros

➤ Trimetoprima-sulfametoxazol

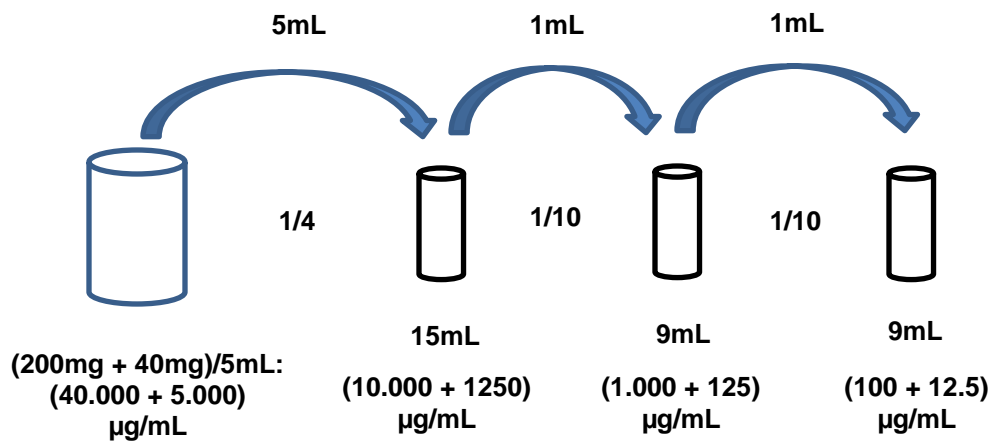


Figura #27: Esquema de las diluciones realizadas al antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol a partir de una solución madre de (40.000 + 5.000) µg/mL.

9.2 Diluciones realizadas a los antibióticos para obtener concentraciones en un rango entre 0.0625 y 128 µg/mL.

➤ Para los antibióticos amikacina, gentamicina, ampicilina, ceftazidime, cefalotina y tetraciclina se realizó el siguiente esquema:

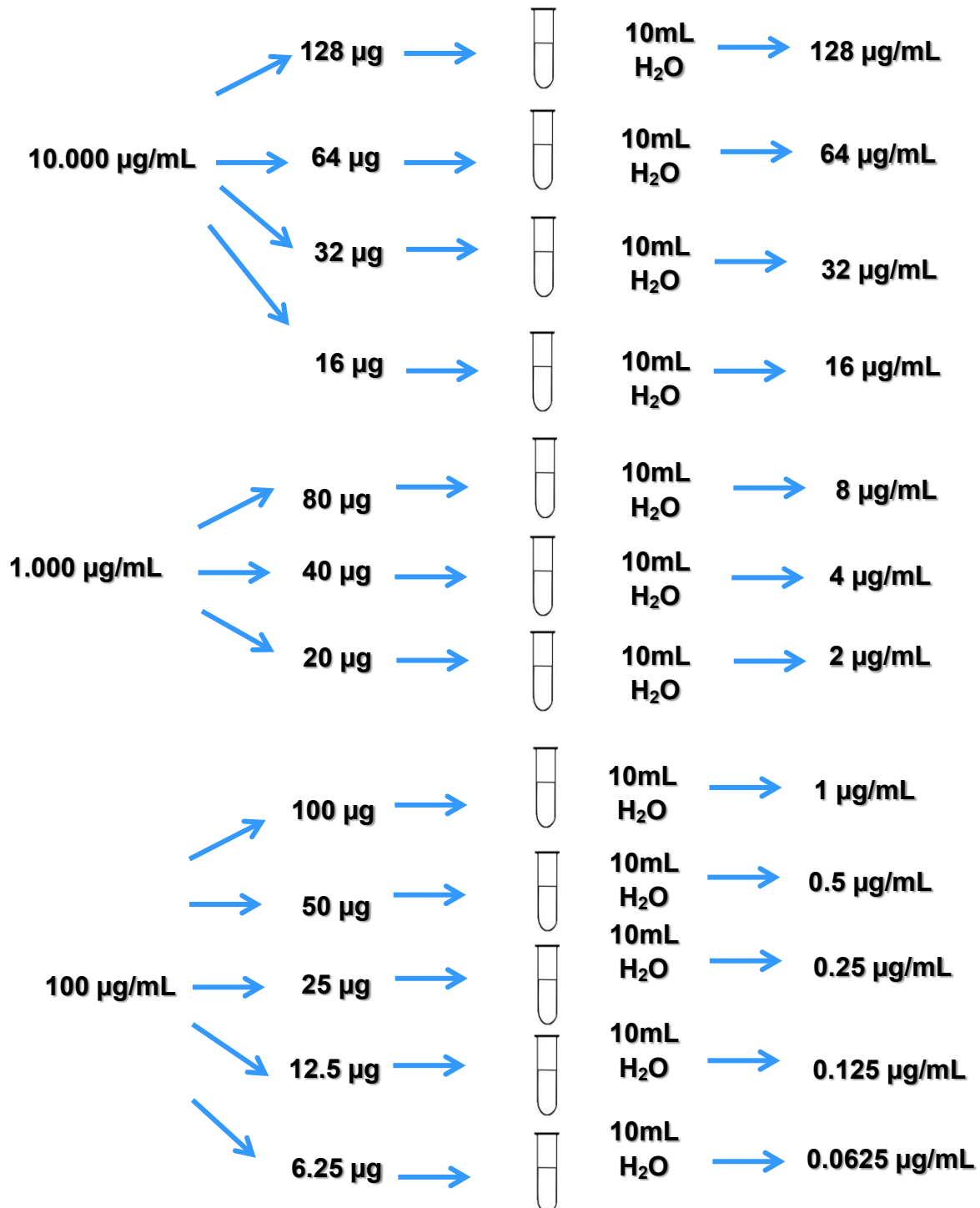


Figura #28: Diluciones realizadas a los distintos antibióticos a partir de concentraciones de 10.000 µg/mL, 1.000 µg/mL y 100 µg/mL. 125

➤ Para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico se realizó el siguiente

esquema:

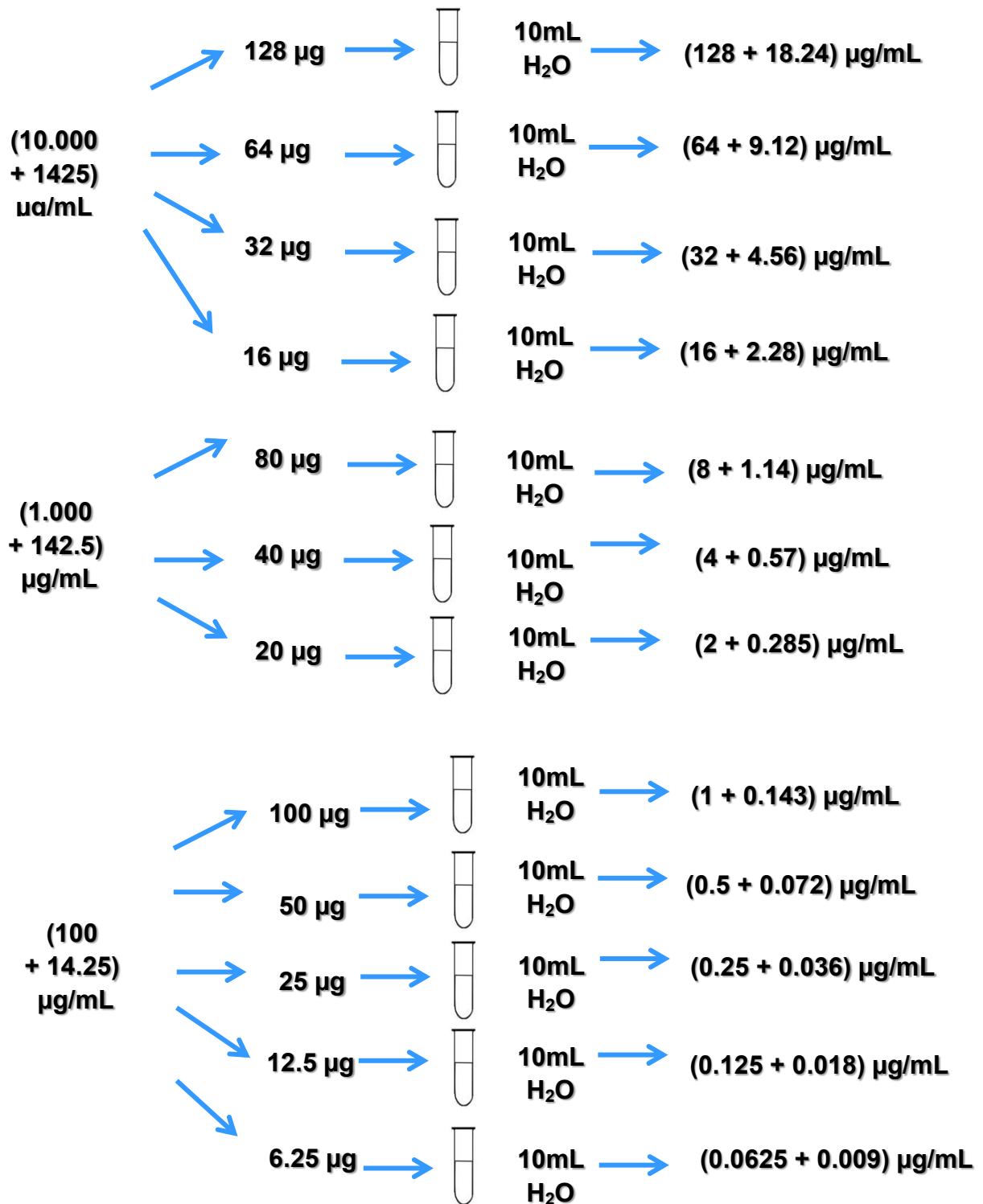


Figura #29: Diluciones realizadas a los distintos antibióticos a partir de concentraciones de 10.000 µg/mL, 1.000 µg/mL y 100 µg/mL.

➤ Para el antibiótico ciprofloxacina se realizó el siguiente esquema:

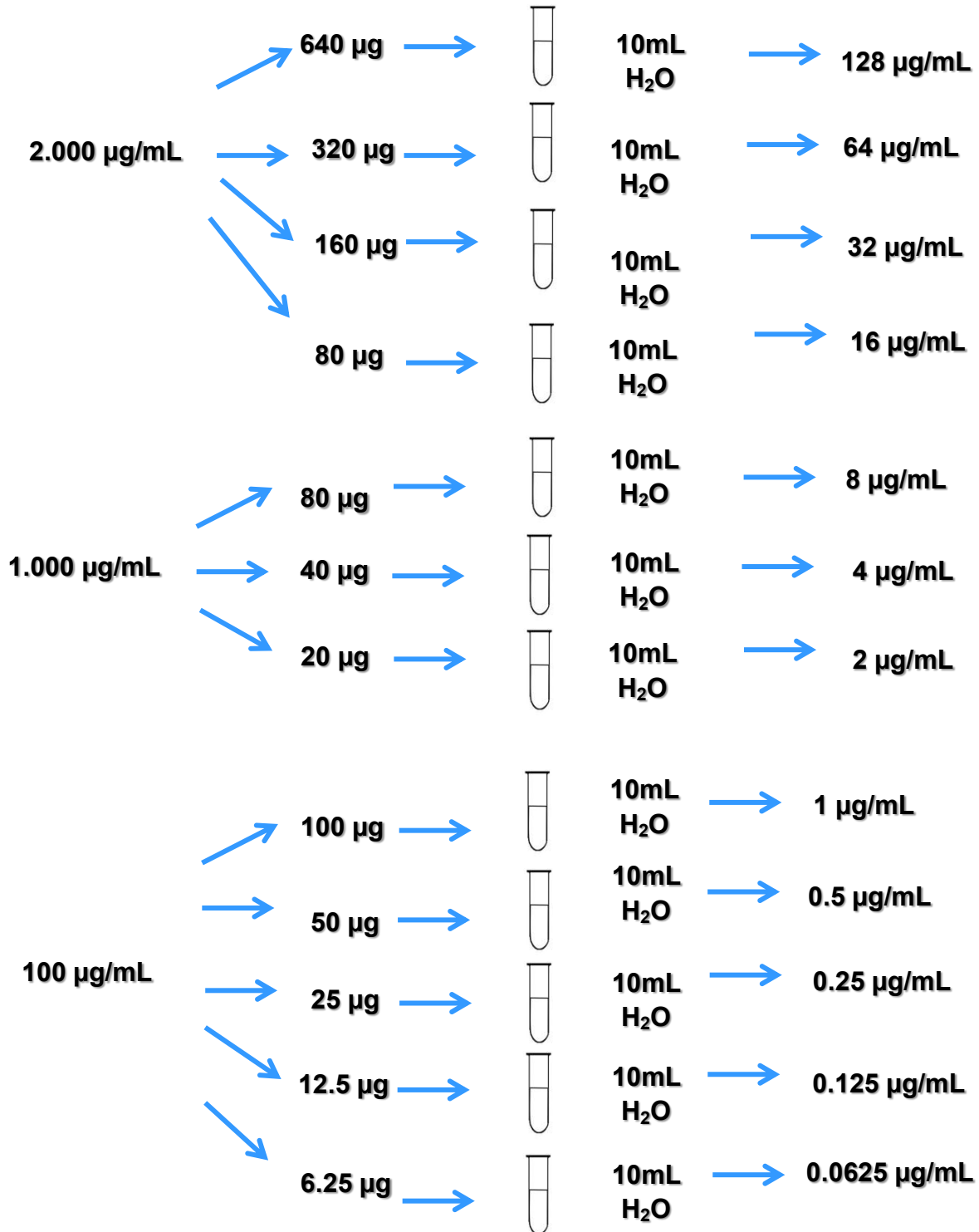


Figura #30: Diluciones realizadas a los distintos antibióticos a partir de concentraciones de 10.000 µg/mL, 1.000 µg/mL y 100 µg/mL.

➤ Para el antibiótico cloranfenicol se realizó el siguiente esquema:

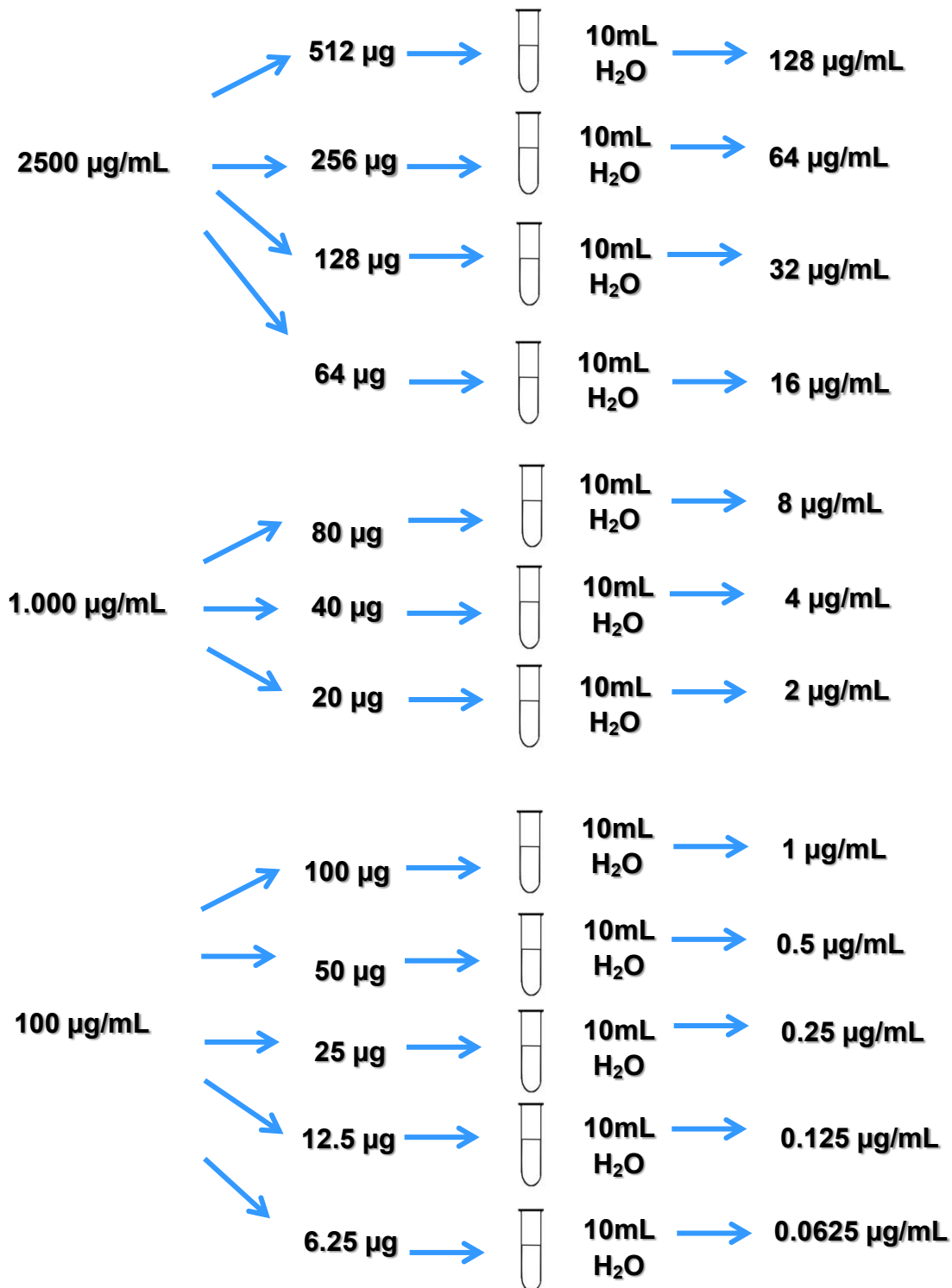


Figura #31: Diluciones realizadas a los distintos antibióticos a partir de concentraciones de 10.000 µg/mL, 1.000 µg/mL y 100 µg/mL.

➤ Para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol se realizó el siguiente

esquema:

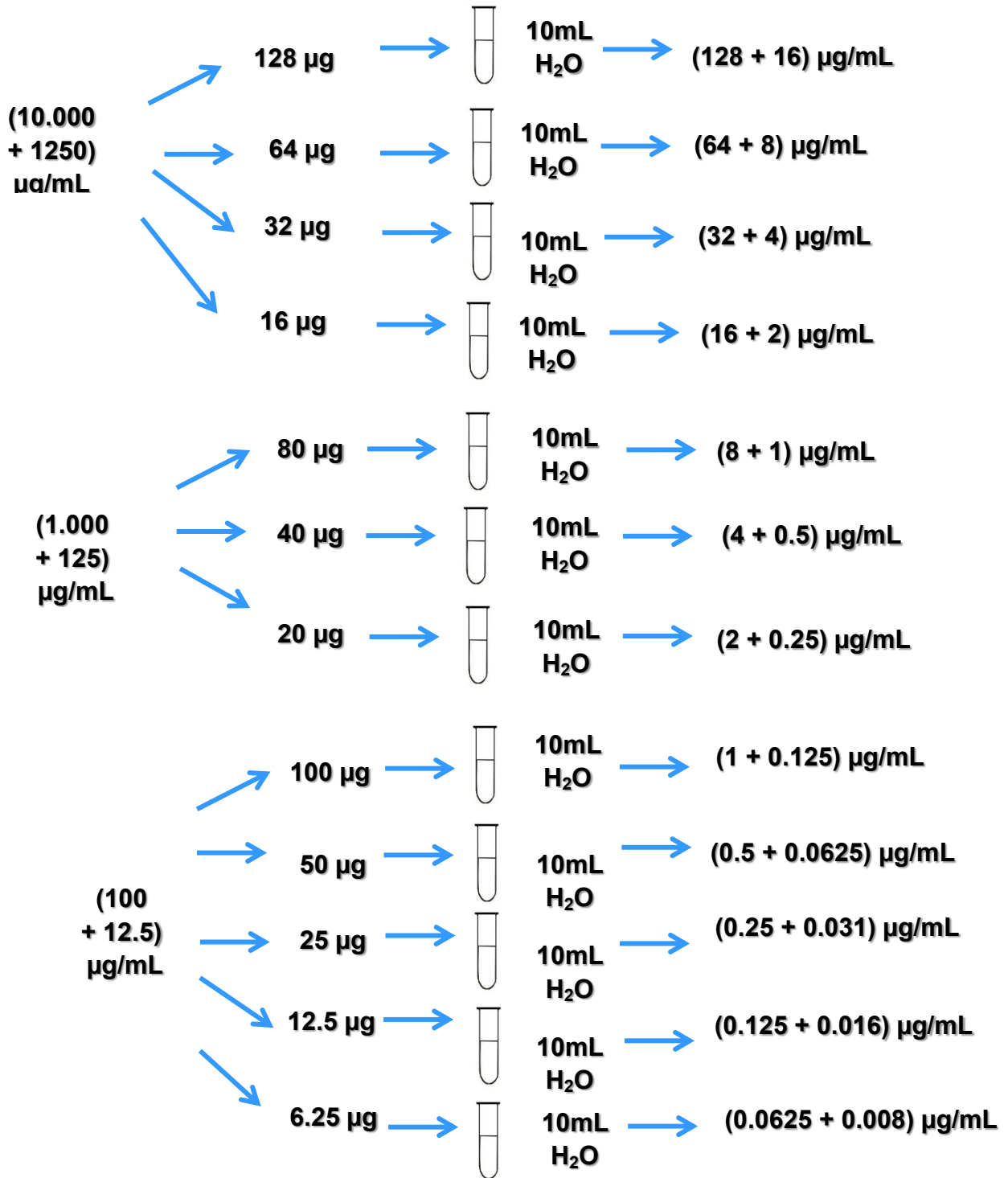


Figura #32: Diluciones realizadas a los distintos antibióticos a partir de concentraciones de 10.000 µg/mL, 1.000 µg/mL y 100 µg/mL.

9.3 Halos de inhibición obtenidos para cada antibiótico

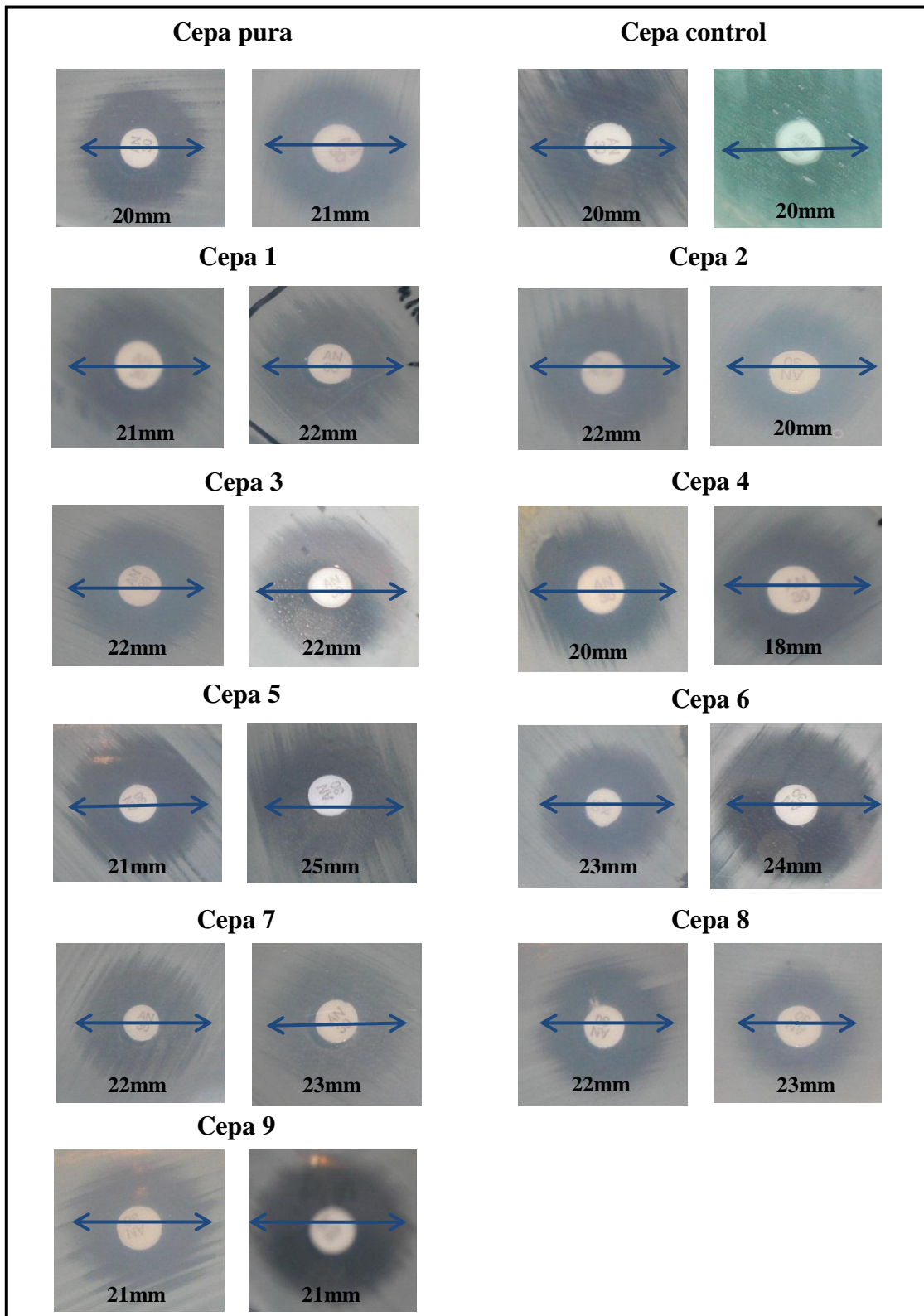


Figura #33: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amikacina para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

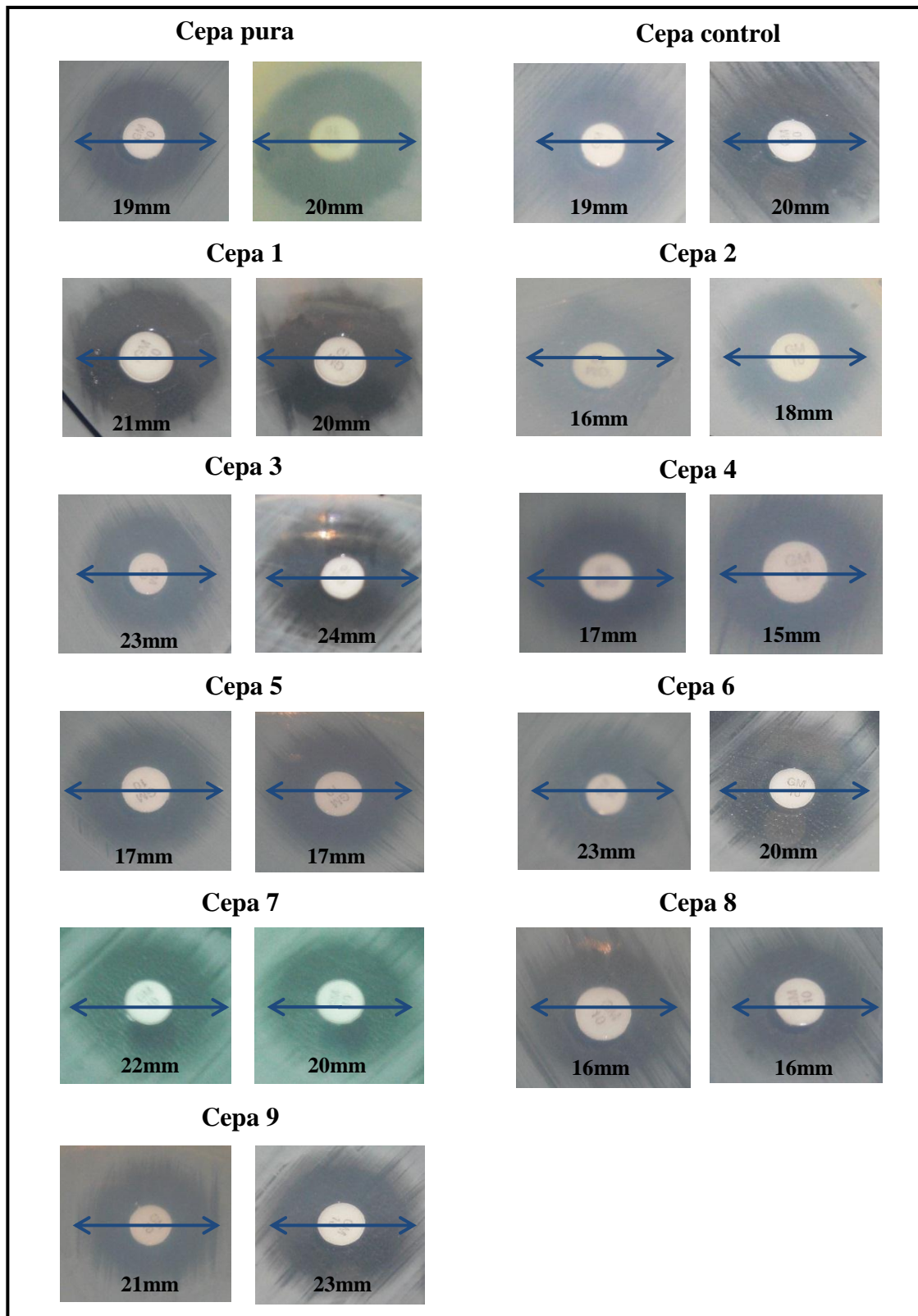


Figura #34: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico gentamicina para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

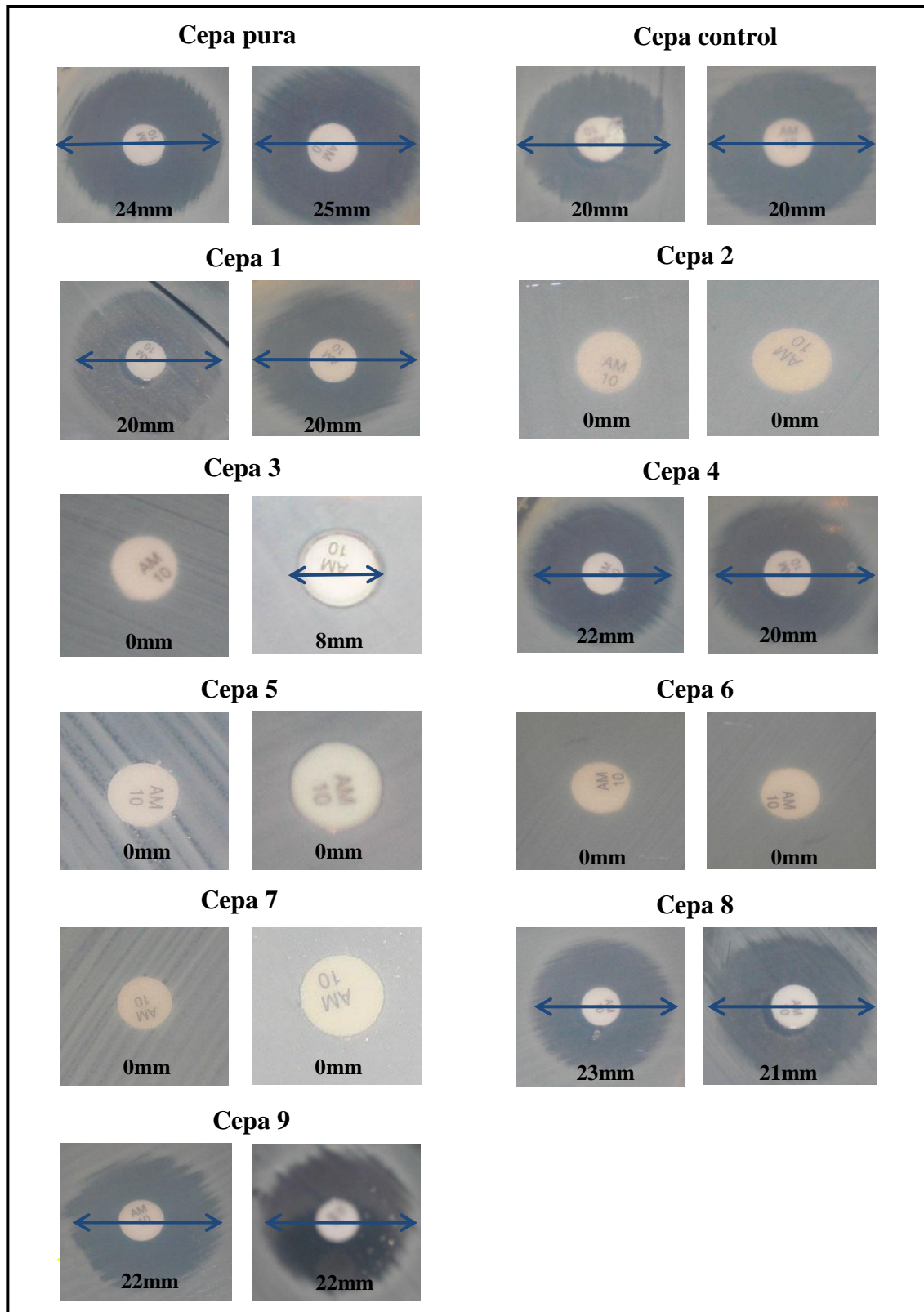


Figura #35: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ampicilina para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

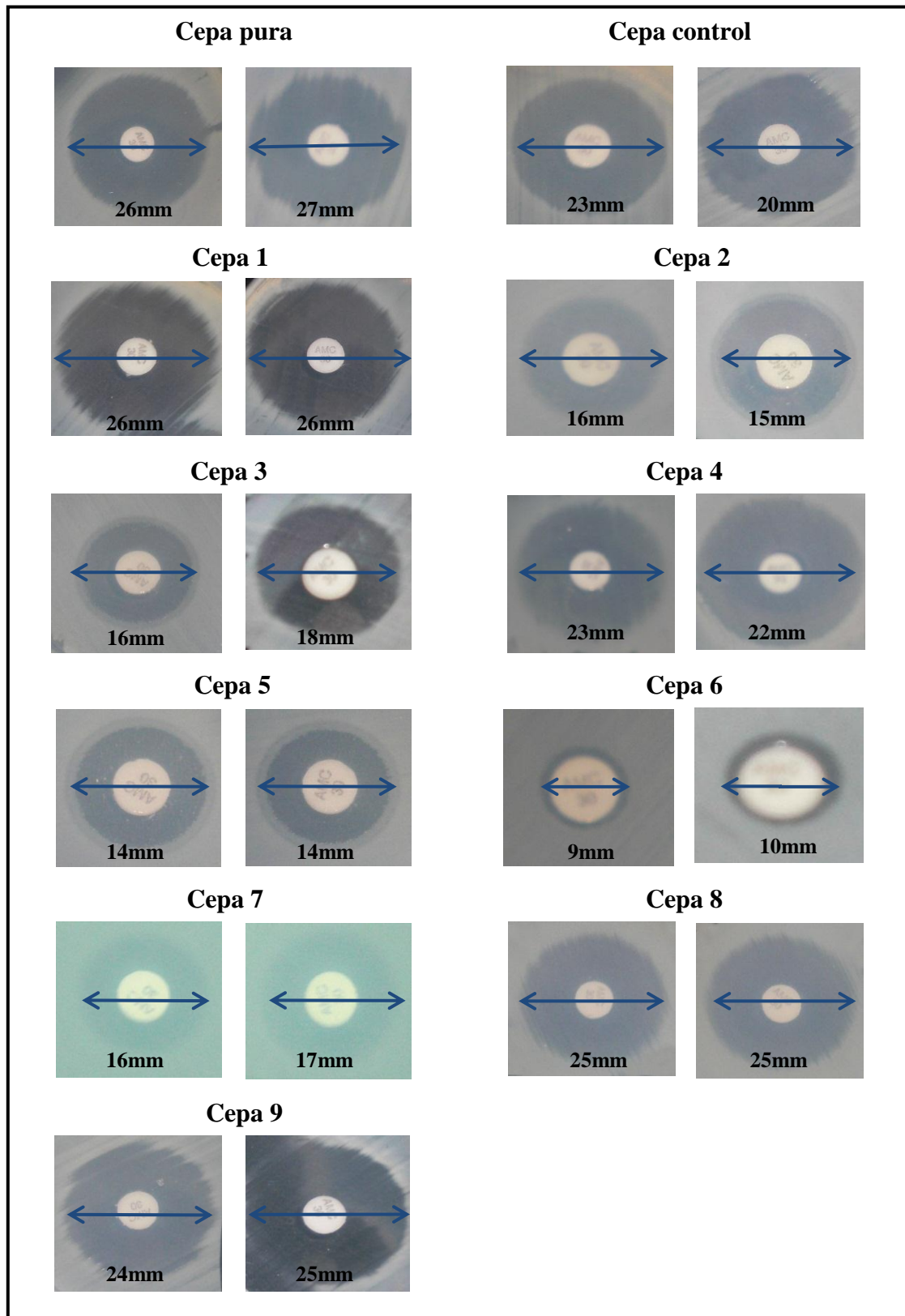


Figura #36: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

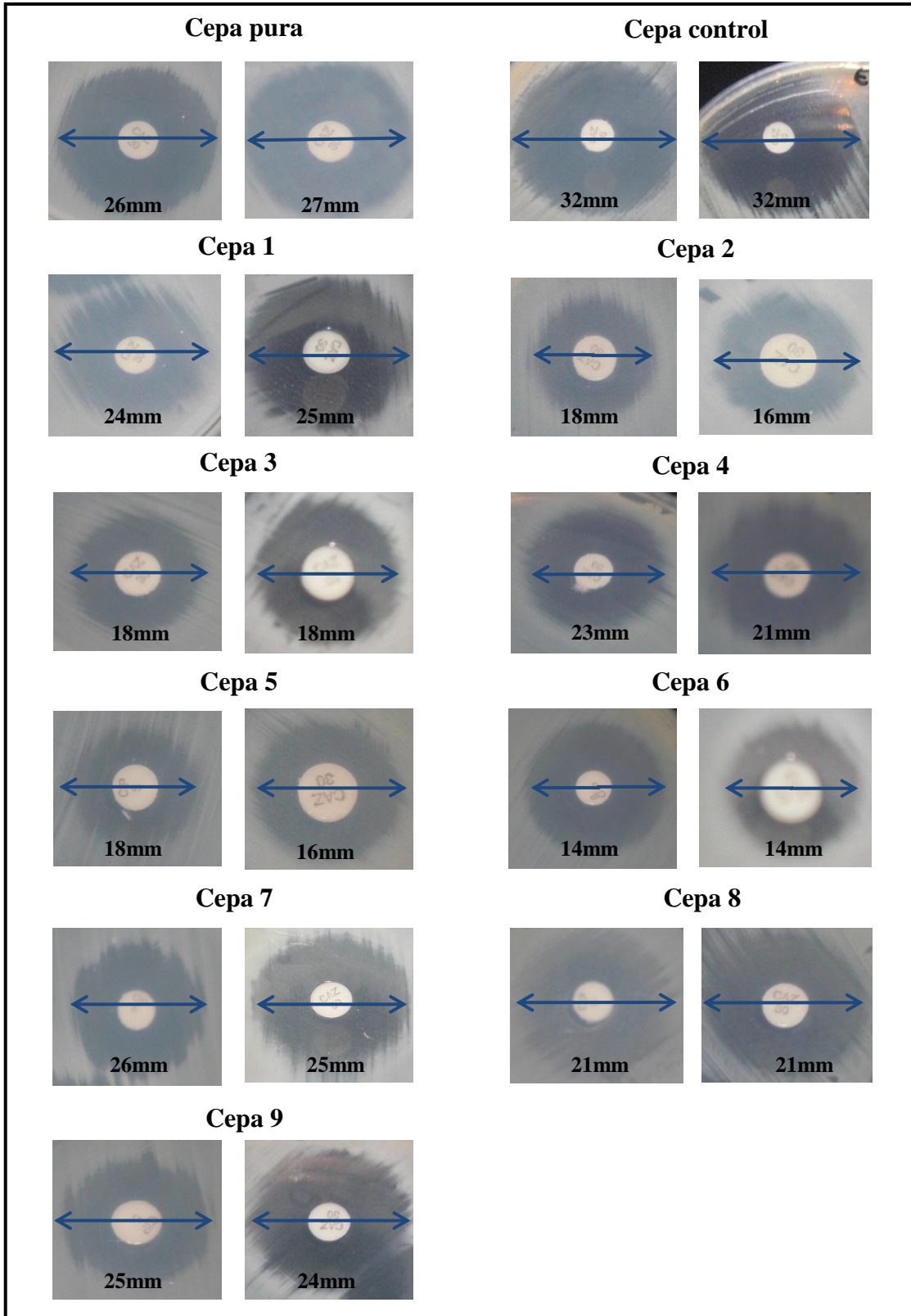


Figura #37: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ceftazidime para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

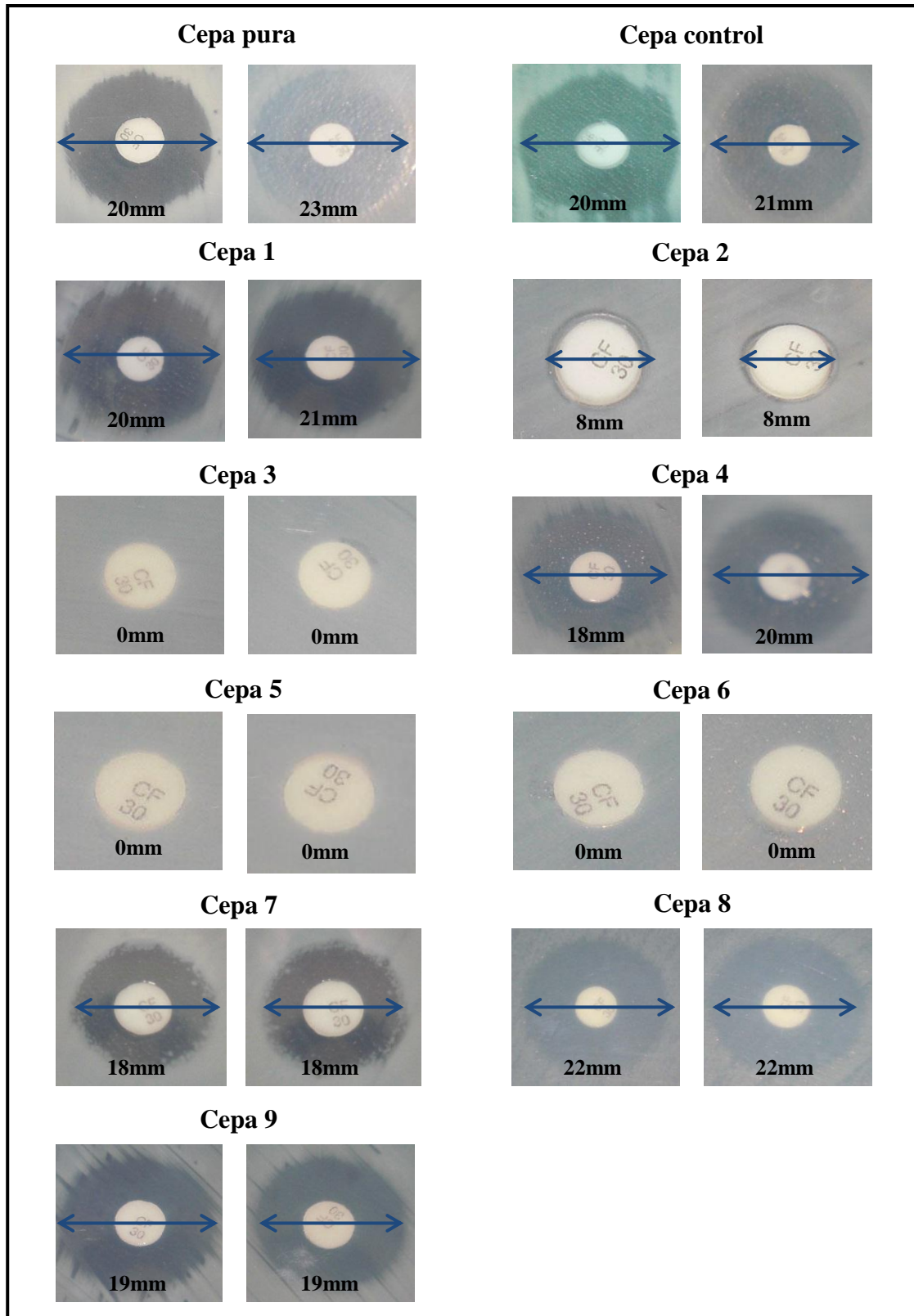


Figura #38: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cefalotina para la cepa pura de *Salmonella* spp., cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

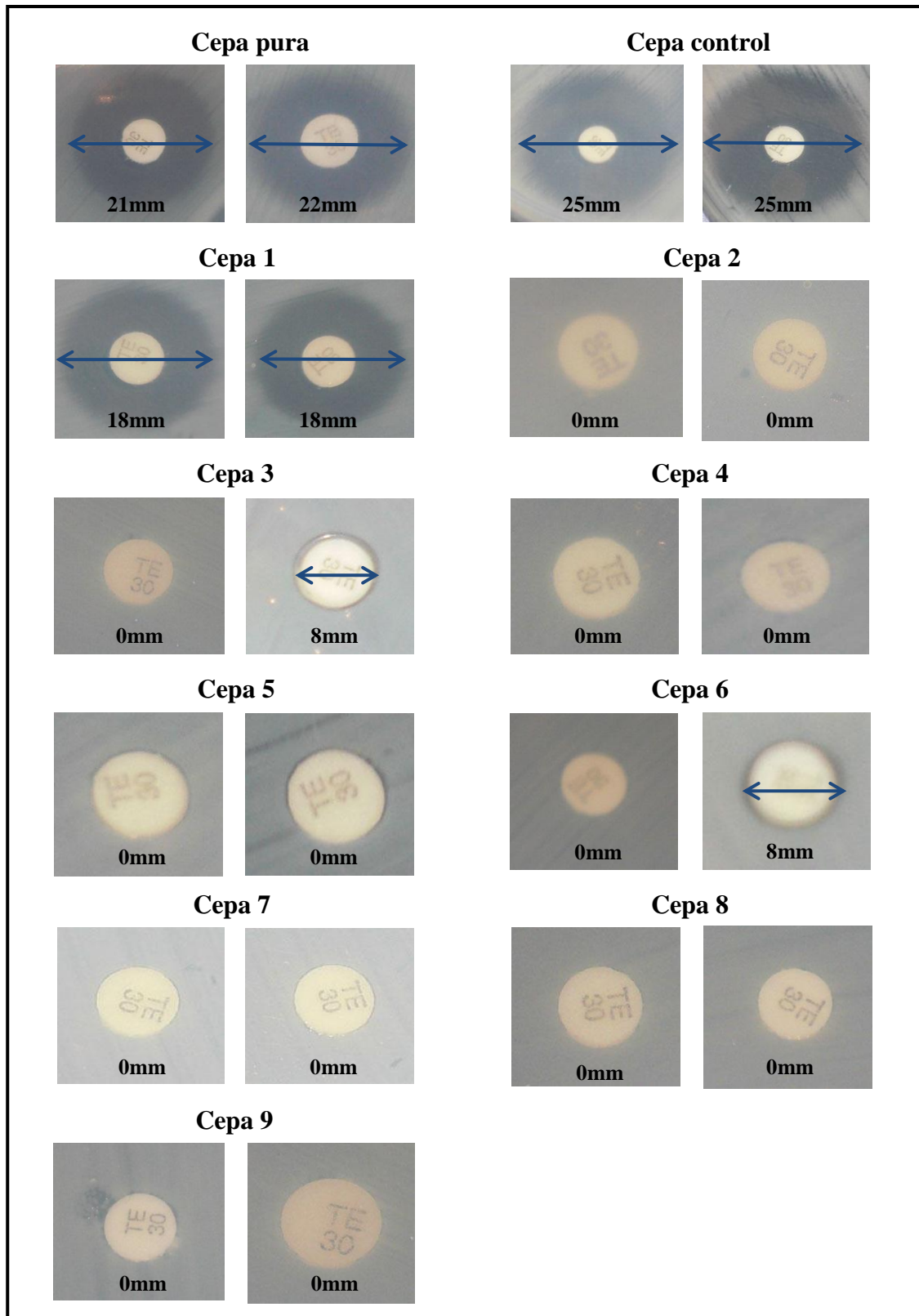


Figura #39: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico tetraciclina para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

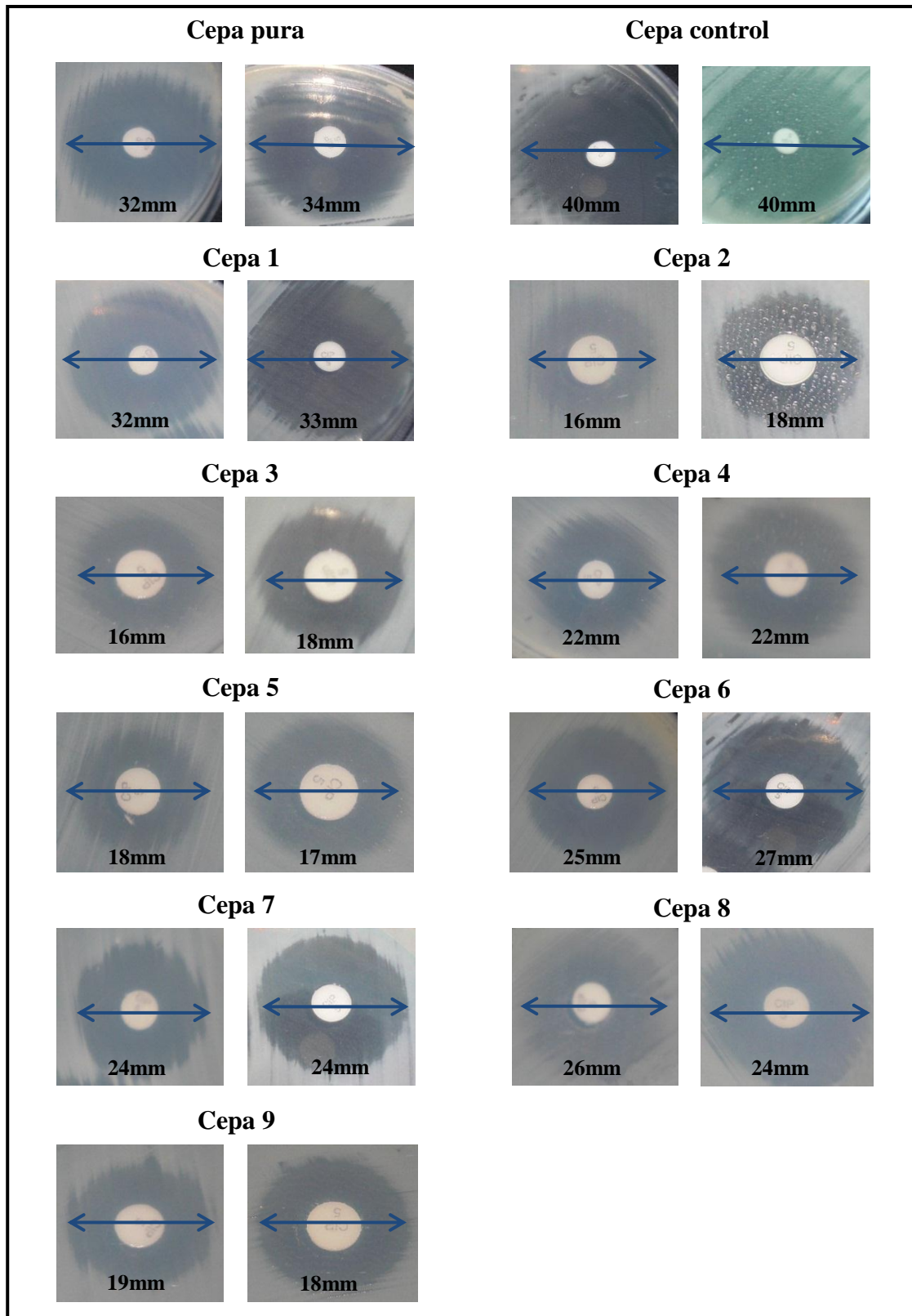


Figura #40: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ciprofloxacina para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

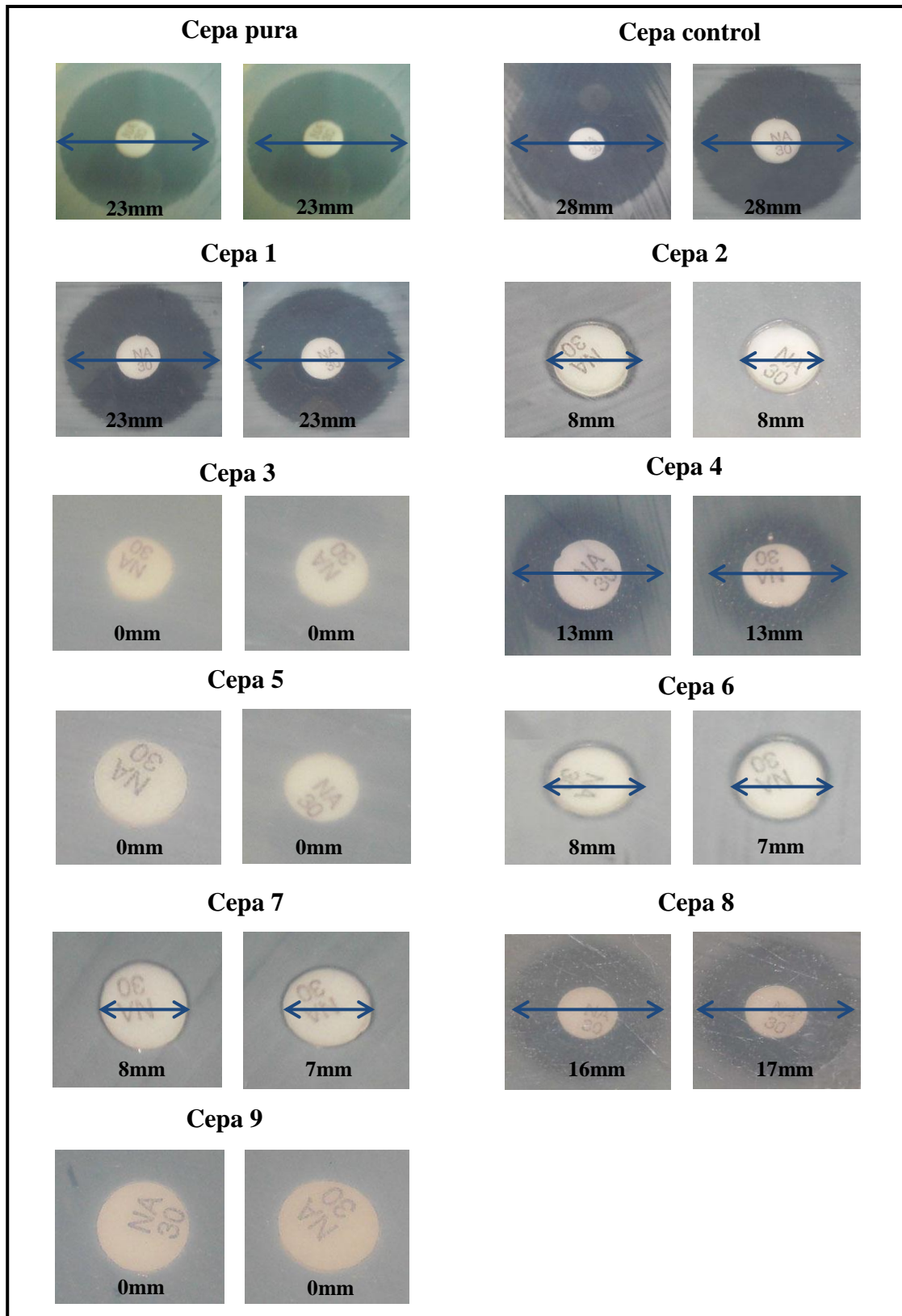


Figura #41: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico ácido nalidíxico para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

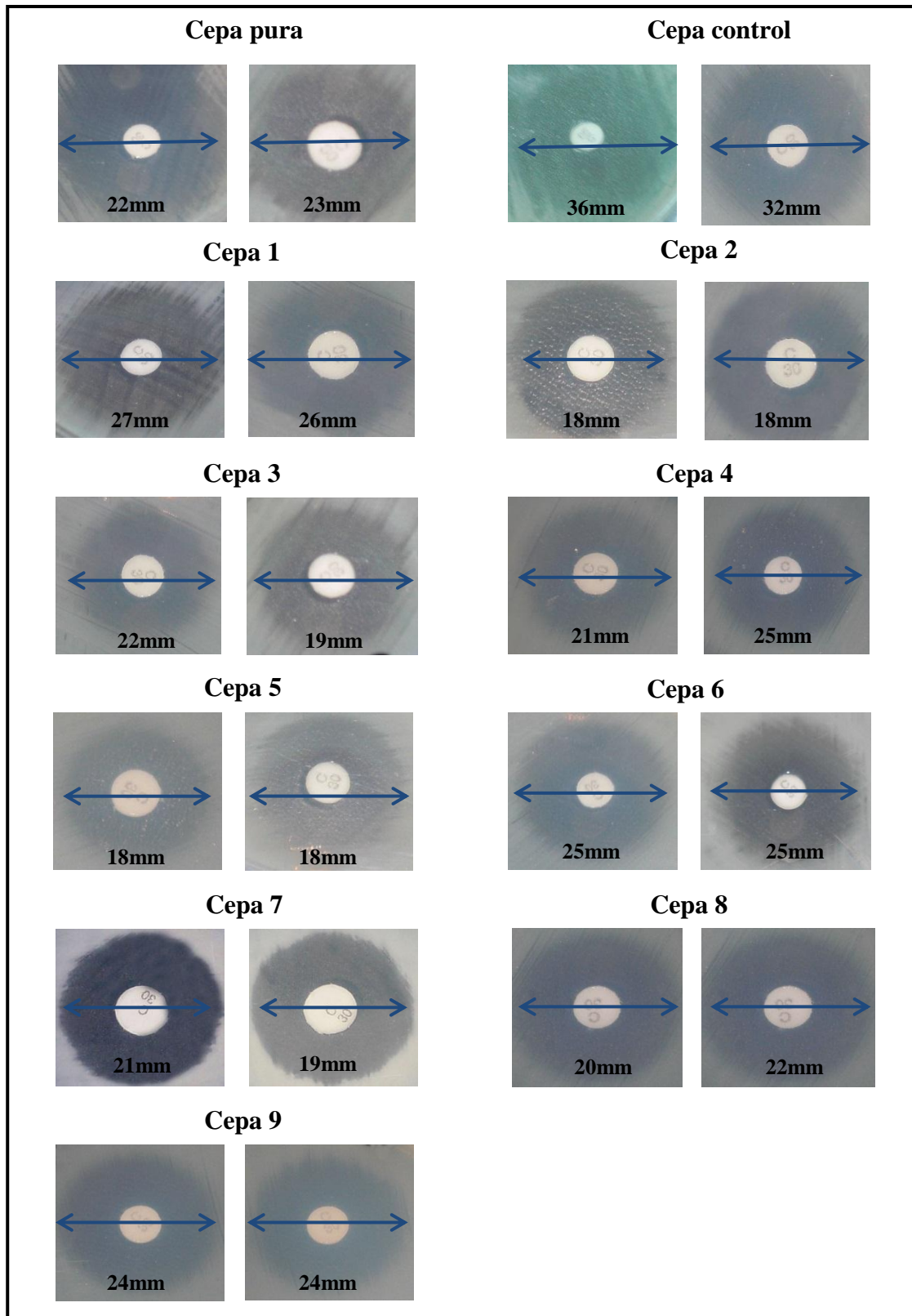


Figura #42: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico cloranfenicol para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

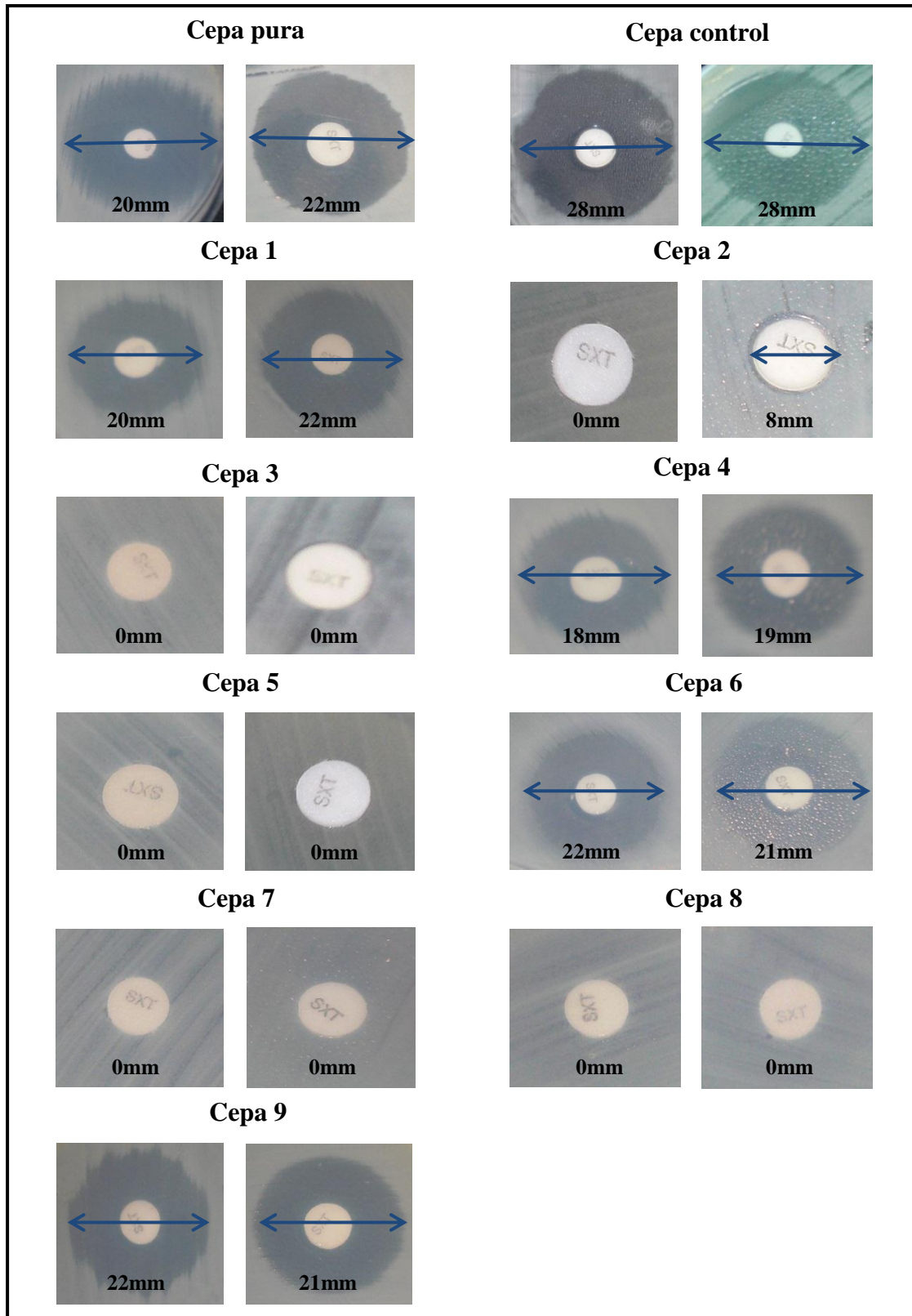


Figura #43: Halos de inhibición obtenidos para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol para la cepa pura de *Salmonella* spp, cepa control de *E.coli* y las 9 cepas aisladas.

9.4 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para cada uno de los 11 antibióticos evaluados.

Tabla #20: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico amikacina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	7.3472	1	7.34722	8.0763	0.01178	4.4939984
Dentro de los grupos	14.555	16	0.90972			
Total	21.90277	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #21: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico gentamicina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	0.05555	1	0.05555	0.01339	0.90932	4.4939984
Dentro de los grupos	66.388	16	4.149305			
Total	66.444	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #22: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico ampicilina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	946.125	1	946.125	15.6789	0.00112	4.4939984
Dentro de los grupos	965.5	16	60.34375			
Total	1911.625	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #23: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	256.888	1	256.888	15.4972	0.00118	4.4939984
Dentro de los grupos	265.222	16	16.57638			
Total	522.11	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #24: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico ceftazidime.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	167.445	1	167.445	20.0804	0.00038	4.4939984
Dentro de los grupos	133.42	16	8.33875			
Total	300.865	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #25: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico cefalotina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	420.5	1	420.5	8.92308	0.00871	4.4939984
Dentro de los grupos	754	16	47.125			
Total	1174.5	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #26: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico tetraciclina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	1558.6805	1	1558.6805	88.7856	6.24x10 ⁻⁸	4.4939984
Dentro de los grupos	280.888	16	17.555			
Total	1839.5694	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #27: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico ciprofloxacina.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	528.125	1	528.125	38.149	1.33x10 ⁻⁵	4.4939984
Dentro de los grupos	221.5	16	13.84375			
Total	749.625	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #28: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico ácido nalidíxico.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	960.68055	1	960.68055	29.94	5.12x10 ⁻⁵	4.4939984
Dentro de los grupos	513.3888	16	32.0868			
Total	1474.0694	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #29: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico cloranfenicol.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	6.7222	1	6.7222	1.47224	0.242601	4.4939984
Dentro de los grupos	73.0555	16	4.56597			
Total	79.777	17				

¹P: Probabilidad

Tabla #30: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas con respecto a la cepa de *Salmonella* spp. para el antibiótico trimetoprima-sulfametoxazol.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P ¹	Valor crítico para F
Entre grupos	583.68055	1	583.68055	10.46504	0.00518	4.4939984
Dentro de los grupos	892.3888	16	55.774305			
Total	1476.0694	17				

¹P: Probabilidad

9.5 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas entre sí.

Tabla #31: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a las longitudes de los halos de inhibición de las 9 cepas entre sí.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P ¹	Valor crítico para F
Entre grupos	1594.5977	8	199.32472	2.662838	0.01136	2.0429856
Dentro de los grupos	6736.8818	90	74.854242			
Total	8331.4796	98				

¹P: Probabilidad

9.6 Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a los porcentajes obtenidos de cepas sensibles y cepas intermedias con el método de disco difusión con respecto al método de microdilución.

Tabla #32: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a los porcentajes obtenidos de cepas sensibles con el método de disco difusión con respecto al método de microdilución.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	5x10 ⁻⁶	1	5x10 ⁻⁶	5.6x10 ⁻⁹	0.999	4.414
Dentro de los grupos	15902.45	18	883.47			
Total	15902.45	19				

¹P: Probabilidad

Tabla #33: Análisis de varianza de una vía con un 95% de confianza aplicado a los porcentajes obtenidos de cepas intermedias con el método de disco difusión con respecto al método de microdilución.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P¹	Valor crítico para F
Entre grupos	98.746	1	98.746	0.3956	0.5373	4.414
Dentro de los grupos	4492.93	18	249.61			
Total	4591.676	19				

¹P: Probabilidad