



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



[Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



CONSTANCIA DE REVISIÓN

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud a la Tesis cuyo título es:

**"ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE BETA
LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN QUESOS DE
LOS MERCADOS DEL DISTRITO DE CHINCHA ALTA"**

presentado por:

CAMACHO MENDOZA, OSCAR MARCELO

Estudiante del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**. El resultado obtenido es 16% por el cual se otorga el calificativo de: **APROBADO**, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones: Ninguna

Ica, 13 de JULIO del 2022

.....
MARÍA EMILIA DÁVALOS ALMEYDA
DIRECTOR DE UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



Tesis

“Escherichia coli productora de beta lactamasa de espectro extendido en quesos de los mercados del Distrito de Chincha Alta”

Línea de investigación

Salud pública y conservación del medio ambiente

Autor:

Camacho Mendoza, Oscar Marcelo

Ica, Perú

2022

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a la Comunidad Veterinaria, en especial al área de la Salud Pública, esperando sirva de colaboración para mejorar el cuidado de la salud humana y seguiremos investigando para fortalecer y realzar el prestigio de nuestra hermosa profesión.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia, en especial a mi Madre Yvonne por impulsarme a seguir mis sueños como Médico Veterinario Zootecnista, a mi Padre Oscar por motivarme a seguir adelante como profesional, a mi Hermanita Noellia por ser un apoyo en los momentos difíciles, a mi Novia Yonnina por aceptarme como soy; con errores, locuras y aventuras, también a mis hijas Sammy y Camila que son mi inspiración día a día.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pag.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	19
2.1 Lugar y fecha de ejecución	19
2.2 Instalaciones utilizadas	19
2.3 Materiales, equipos y reactivos	19
2.4 Tipo de investigación	20
2.5 Metodología de la investigación	20
2.6 Variables en estudio	24
2.7 Análisis estadísticos	25
III. RESULTADOS	26
IV. DISCUSIÓN	28
V. CONCLUSIONES	29
VI. RECOMENDACIONES	30
VII. BIBLIOGRAFÍA	31
VIII. ANEXO	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
1. Clasificación de β – lactamasas, según Ambler (1980).....	6
2. Clasificación de β – lactamasas, según Bush – Jacoby (2010).....	7
3. Principales características bioquímicas de <i>Escherichia spp</i>	23
4. Perfil de resistencia a los antibacterianos de <i>Escherichia coli</i> aislados en quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta, Febrero del 2022.....	25
5. <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE aislados en quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta, Febrero del 2022.....	26

ÍNDICE DE FIGURA

	Pag.
1. Determinación fenotípica de BLEE, según el método de Jarlier (SMF – Francia).....	26

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag.
1. Puesto de venta de queso del mercado de abasto, Distrito de Chincha Alta.....	36
2. Puesto de venta de queso de la parada, Distrito de Chincha Alta.....	36
3. Procesamiento de las muestras de quesos y siembra bacteriológica.....	37
4. Colonias de Enterobacteriaceae en agar Mac conkey.....	37
5. Enterobacteriaceae en agar tripticadas de soya.....	38
6. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli</i>	38
7. Perfil de resistencia a los antibacterianos de <i>Escherichia coli</i>	39
8. Resultados del perfil de resistencia a los antibacterianos de <i>Escherichia coli</i>	39

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: “El uso de las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam han activado a las Enterobacteriaceae para la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)” (3). “Las BLEE, están codificadas principalmente por plásmidos y dispositivos móviles que fácilmente pueden transferirse a otras bacterias como las pertenecientes a Enterobacteriaceae”(4). “La carne de pollo, la leche cruda y el queso pueden considerarse de alto riesgo para la diseminación de Enterobacteriaceae productoras de BLEE. Por lo que deben ser evaluadas epidemiológicamente a nivel local, regional, nacional e internacional; lo cual es incompleta en varios lugares geográficos” (4). “La resistencia a los antibióticos conduce a un aumento de la morbilidad, mortalidad y el costo del tratamiento, en particular, causadas por bacterias productoras de BLEE” (9). **OBJETIVO:** Determinar *Escherichia coli* (*E. coli*) productora de BLEE y su perfil de resistencia antibacteriana, aislados en quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta. **MÉTODOS:** Se aislaron 5 cepas de *E. coli* en quesos que se comercializan en 17 puestos de los mercados (abasto: 4 y parada: 13). A partir del mercado de abasto se aisló una cepa bacteriana y de la parada se obtuvieron 4 cepas de dos puestos de venta. Para la determinación fenotípica de *E. coli* productora de BLEE, se realizó, según el método de Jarlier y para su perfil de resistencia antibacteriana mediante el método de disco difusión estándar (Método de Kirby Bauer). **RESULTADOS:** De los 17 puestos que comercializan quesos, 3 (abasto: 1 y parada: 2), 3/17 (17,64 %) contaminados con *E. coli* no productora de BLEE. El 100 % de las cepas de *E. coli*, fueron sensibles: cefalosporina de tercera generación (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona), cuarta generación (cefepime), aminoglucósidos (gentamicina), macrólidos (azitromicina), monobactamos (aztreonam) y carbapenemos (meropenem). El 60 %, con resultados intermedios para la colistina y quinolona de segunda generación (ciprofloxacina). El 100 % fueron resistentes: cefalosporina de primera generación (cefalotina) y penicilina de amplio espectro (amoxicilina). Resistencia variable: tetraciclinas (80 %); quinolona de primera generación (ácido nalidixico), sulfa – trimetoprim y cloranfenicol (60 %); colistina (40 %) y quinolona de segunda generación (20 %). **CONCLUSIONES:** Moderada contaminación de los quesos por *E. coli* y no se detectó como productora de BLEE, siendo sensibles a la mayoría de los betalactámicos (cefalosporina de tercera y cuarta generaciones, monobactamos y carbapenemos), aminoglucósidos y macrólidos; con intermedios resultados para la colistina y quinolona de segunda generación; resistentes a cefalosporina de primera generación y penicilina de amplio espectro; resistencia variables, desde alta hasta moderado para las tetraciclinas, quinolonas de primera generación, sulfa – trimetoprim, cloranfenicol, colistina y quinolona de segunda generación.

Palabras claves: *Escherichia coli*, queso, betalactamasa de espectro extendido y perfil de resistencia antibacteriana.

ABSTRACT

INTRODUCTION: “The use of third-generation cephalosporins and aztreonam have activated Enterobacteriaceae for the production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)” (3). “ESBLs are mainly encoded by plasmids and mobile devices that can easily be transferred to other bacteria such as those belonging to Enterobacteriaceae”(4). “Chicken meat, raw milk and cheese can be considered high risk for the spread of ESBL-producing Enterobacteriaceae. Therefore, they must be evaluated epidemiologically at the local, regional, national and international level; which is incomplete in various geographical locations” (4). “Antibiotic resistance leads to increased morbidity, mortality and cost of treatment, particularly caused by ESBL-producing bacteria” (9). **OBJECTIVE:** To determine ESBL-producing *Escherichia coli* (*E. coli*) and its antibacterial resistance profile, isolated in cheeses from the markets (supply and stall) of the District of Chincha Alta. **METHODS:** Five strains of *E. coli* were isolated from cheeses sold in 17 market stalls (supply: 4 and stop: 13). A bacterial strain was isolated from the supply market and 4 strains were obtained from two stalls. For the phenotypic determination of ESBL-producing *E. coli*, it was carried out according to the Jarlier method and for its antibacterial resistance profile using the standard disk diffusion method (Kirby Bauer method). **RESULTS:** Of the 17 stalls that sell cheese, 3 (supply: 1 and stop: 2), 3/17 (17.64%) contaminated with non-ESBL-producing *E. coli*. 100 % of the *E. coli* strains were sensitive: third generation cephalosporin (ceftazidime, cefotaxime and ceftriaxone), fourth generation (cefepime), aminoglycosides (gentamicin), macrolides (azithromycin), monobactams (aztreonam) and carbapenems (meropenem). 60 %, with intermediate results for colistin and second-generation quinolone (ciprofloxacin). 100 % were resistant: first-generation cephalosporin (cephalothin) and broad-spectrum penicillin (amoxicillin). Variable resistance: tetracyclines (80 %); first-generation quinolone (nalidixic acid), sulfa-trimethoprim and chloramphenicol (60 %); colistin (40 %) and second generation quinolone (20 %). **CONCLUSIONS:** Moderate contamination of cheeses by *E. coli* and it was not detected as an ESBL producer, being sensitive to most beta-lactams (third and fourth generation cephalosporins, monobactams and carbapenems), aminoglycosides and macrolides; with intermediate results for colistin and second generation quinolone; resistant to first-generation cephalosporin and broad-spectrum penicillin; Variable resistance, from high to moderate, for tetracyclines, first-generation quinolones, sulfa-trimethoprim, chloramphenicol, colistin, and second-generation quinolones.

Keywords: *Escherichia coli*, cheese, extended-spectrum beta-lactamase and antibacterial resistance profile.

I. INTRODUCCIÓN

“La mayoría de antibióticos fabricados han sido consumidos por animales productores de alimentos durante los últimos 60 años”(1). “En las bacterias, uno de los mecanismos de resistencia a los antibióticos, es la producción de beta lactamasa de espectro extendido (BLEE) que pueden hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de primera a tercera generaciones y aztreonam (pero no cefamicinas o carbapenémicos) y su actividad puede ser inhibidas por inhibidores de beta lactamasa como el ácido clavulánico”(2).

“El uso generalizado de las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam ha dado lugar a las codificaciones de genes: TEM (blaTEM), SHV (blaSHV) y CTX – M (blaCTX – M); y difusión de cepas bacterianas productoras de BLEE, en particular, entre Enterobacteriaceae asociados con enfermedades entéricas graves” (3). “Las BLEE, están codificadas principalmente por plásmidos y dispositivos móviles (integrones, secuencias de inserción y transposones) que fácilmente pueden transferirse a otras bacterias como las pertenecientes a Enterobacteriaceae”(4).

“Las BLEE más prevalentes son derivadas de: TEM, SHV y CTX – M” (5). “Después de la década del 2000, CTX – M, se han vuelto mucho más frecuentes que TEM y SHV”(6).

“Los animales productores de alimentos y los alimentos de origen animal podrían transmitir Entertobacteriacea productora de BLEE para la colonización e infección de los seres humanos”(7).

“Las infecciones por bacterias productoras de BLEE, desde principios del año 2000 se ha aumentado su frecuencia, en especial *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Klebsiella spp.* En el año 2015, la frecuencia de *E. coli* productora de BLEE detectadas en pacientes ambulatorios con infecciones urinarias atendidos en el Hospital Cayetano Heredia fue del 41 %” (8).

“La resistencia a los antibióticos conduce a un aumento de la morbilidad, mortalidad y el costo del tratamiento, en particular, causadas por bacterias productoras de BLEE” (9). “Una infección producida por *E. coli* productora de BLEE se asocia con una mortalidad tres veces mayor que una por una bacteria sensible” (10).

“La carne de pollo, la leche cruda y el queso pueden considerarse de alto riesgo para la diseminación de Enterobacteriaceae productoras de BLEE. Por lo que deben ser evaluadas epidemiologicamnete a nivel local, regional, nacional e internacional; lo cual es incompleta en varios lugares geográficos” (4), como en el Distrito de Chincha Alta.

En el estudio se ha determinado, *E. coli* productora de BLEE y además su perfil de resistencia antimicrobiana detectados en quesos que se comercializan en los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chíncha Alta”.

Antecedentes

“Se reporta el estudio de 223 cepas de *E. coli* aisladas de quesos blancos caseros para determinar su prevalencia en la producción de BLEE mediante tres métodos: Disco prueba de difusión, disco doble prueba de sinergia y prueba confirmatoria a través de los Estándares para pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (NCCLS). Para el primer método, el 48 % de los aislados fueron productores de BLEE, por el segundo y tercero se obtuvieron valores de 16,1 % y 9,9 % respectivamente. Además, se determinó el perfil de resistencia de la *E. coli* contra 16 antimicrobianos mediante el método de difusión en disco. Todas las cepas eran sensibles a imipenem (carbapenemo) y cefepima (cefalosporina de cuarta generación); sensibles a cefalosporina de tercera generación (ceftazidima: 93,7 %; ceftriaxona: 96,4 % y cefotaxima: 81,2 %) y aztreonam: 90,6 %. Los antibióticos menos efectivos fueron la ampicilina (penicilina de amplio espectro) con una tasa del 68,6 % y la cefuroxima (cefalosporina de segunda generación) con una tasa del 69,1 %” (11).

“Se detectaron Enterobacteriaceae productoras de BLEE y las características de sus genes codificadores de un total de 250 muestras de alimentos de origen animal (100: carne cruda de pollo, 100: leche cruda de vaca y 50: quesos crudos de leche de vaca) vendidos en Turquía. En general, 55 aislamientos fueron positivos como Enterobacteriaceae productoras de BLEE. La cepa productora de BLEE más prevalente fueron: *E. coli* (80 %), *Enterobacter cloacae* (9,1 %), *Citrobacter braakii* (5,5 %), *Klebsiella pneumoniae* (3,6 %) y *Citrobacter werkmanii* (1,8 %). Se detectó la producción simultánea de BLEE y AmpC en cinco aislamientos (9,1 %) en *E. coli* (80 %) y *E. cloacae* (20 %). Las tasas de frecuencia de blaTEM, blaCTX – M, y blaSHV fueron 96,4 %, 53,7 % y 34,5 %, respectivamente. La coexistencia de genes bla se detectaron en el 82 % de los productores de BLEE con una distribución de blaTEM y blaCTX – M (52,7 %), blaTEM y blaSHV (20 %), blaTEM, blaCTX – M y blaSHV (12,7 %) y blaSHV y blaCTX – M (1,8 %). Las variantes más prevalente de CTX – M se definieron como blaCTX – M – 1 (97,2 %) y blaCTX – M – 8 (2,8 %). Los alimentos analizados presentan riesgo para la salud de los consumidores turcos debido a la contaminación por Enterobacteriaceae con un diversidad de genes que codifican BLEE” (12).

“Se reporta BLEE y β – lactamasa AmpC de Enterobacteriaceae aisladas de leche cruda y línea de producción de queso para determinar la probabilidad de transmitir estas bacterias a los consumidores. Se tomaron 173 muestras de leche cruda y se analizaron las líneas de producción de queso, el 37 % (64/173) fueron confirmado como *Enterobacteriaceae*; 7/173 (4,05 %),

productoras de BLEE y 27/173 (15,61 %) productoras de AmpC; 5 de los BLEE positivos (71,43 %) y 11 de AmpC positivos (40,74 %) se obtuvieron de los tanques de leche a granel. Por lo tanto, el tanque a granel juega un papel muy importante en la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos, siendo necesario la limpieza periódica y el mantenimiento de los tanques a granel para la seguridad e higiene alimentaria, lo cual, debería reducir significativamente la contaminación cruzada en Plantas lecheras” (13).

“Se detecto la prevalencia de Enterobacteriaceae productoras de BLEE y genes codificantes en quesos que se venden en los mercados de Samsun. Se recolectaron 150 quesos, de los cuales se identificaron 148 aislamientos: 79 *E. coli* (53,40%), 39 *Klebsiella pneumoniae* (26,35 %), 16 *Klebsiella oxytoca* (10,81 %), 5 *Citrobacter youngae* (3,38 %), 4 *Shigella boydii* (2,70 %), 2 *Klebsiella ozaenae* (1,35 %), 2 *Enterobacter cloacae* (1,35 %), y 1 *Enterobacter aerogenes* (0,67 %); 34 (22, 97 %) cepas productoras de BLEE. Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se identificaron que portaban genes de resistencias: 64 de tipo blaCTX – M (43,24 %), 39 blaTEM (26,35 %) y 16 blaSHV (10,81 %). Se concluyó que los quesos que se comercializan en los mercados son una fuente importante de bacterias entéricas que pueden producir BLEE” (14).

Marco teórico

Familia: *Enterobacteriaceae*

“Los miembros de esta familia forman parte de la microbiota intestinal, pero en pacientes alcohólicos, diabéticos y hospitalizados se pueden aislar de la cavidad oral y faríngea. Se aísla con más frecuencia en los laboratorios clínicos, produciendo infecciones en pacientes con inmunidad conservada y en inmunodeprimidos causando diferentes infecciones adquiridas en la comunidad como en los nosocomiales” (15).

“*E. coli* es la enterobacteria que se halla con más frecuencia en el tracto digestivo y la más descrita como causante de patología en los seres humanos” (16), “es un bacilo gramnegativo y fue bautizado en honor a su descubridor Theodor Escherich en 1958” (17); “es anaerobio facultativo, móvil, catalasa positiva, oxidasa negativa, reduce el nitrato a nitrito, normalmente fermenta la lactosa y glucosa, produce indol a partir del triptófano; siendo negativa a la reacción de Voges Proskauer, ureasa y fenilalanina desaminasa” (16).

“*E. coli* no es considerada patógena, sin embargo, la exposición a una alta carga bacteriana, deficiencia o alteración en el sistema inmune, o la presentación de sus seis patotipos: enteropatogénica (EPEC), enterohemorrágica o también conocida como productora de Shiga toxina (STEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), enteroinvasiva (EIEC) y de adherencia difusa (DAEC); pueden llevar al portador a enfermedades que cursan principalmente

con cuadros diarreicos y infecciones del tracto urinario como el síndrome urémico hemolítico, que cursan con cuadros respiratorios, llegando a casos de sepsis” (18).

Factores de virulencia

“Poseen fimbrias y adhesinas imprescindibles para adherirse a las mucosas, siendo el primer paso para la colonización bacteriana; producen toxinas como la endotoxina, hemolisina, citotoxinas. Los plasmidos, que son unidades de ADN extracromosómicos, intracitoplasmáticos, con capacidad de autorreplicación son fundamentales en la codificación de información para su acción patógena (islas de patogenicidad), así como para la resistencia a los antibióticos” (16).

Colonización intestinal en Humanos por bacterias resistentes a los antimicrobianos

“Existen múltiples posibilidades para que los bacilos gram negativos fermentadores de lactosa (coliformes) resistentes lleguen al intestino del ser humano para causar infección y/o colonizarlo. Existen factores que disminuyen el tamaño del inóculo necesario para llevar a cabo tales efectos, como la virulencia de las bacterias ingeridas resulta ser decisiva al momento de hablar de dosis infecciosa” (19).

“En presencia de varios factores de virulencia, se requieren muy pocos organismos para causar infección y colonización crónica. La cepa Nissle 1917 de *E. coli*, en seres humanos inmunocompetentes, presenta una dosis infecciosa mínima superior a 10^8 bacterias” (20). “Sin embargo la cepa shigatoxigénica de *E. coli*, con el serotipo O157:H7, se requieren menos de 10 bacterias para causar la infección o colonización” (21).

“El uso de antibióticos especialmente por tiempos prolongados causa presión selectiva sobre la microbiota intestinal y seleccionan clones resistentes, aumentando el riesgo de desarrollar infecciones intestinales” (16). “Existe evidencia de que el compromiso de otro mecanismo inmunitario innato: la modificación del bajo potencial de hidrógeno de la luz estomacal, aumenta el riesgo de infección intestinal bacteriana” (22).

“Los factores de riesgo para adquirir microorganismos intestinales multiresistentes, independientemente de la carga bacteriana consumida por vía oral y del compromiso inmunológico del individuo afectado, se encuentran: hospitalización reciente” (23), “personas que requieren servicios de salud con frecuencia” (24) o “estar en contacto con sitios de atención de salud no hospitalario como los asilos de ancianos” (25), “enfermedades crónicas (diabetes, alcoholismo, etc.), uso de drogas intravenosas” (26) y “contacto estrecho con mascotas” (27).

Respuesta bacteriana a los antibióticos

“Alexander Fleming, en 1928, descubrió la penicilina y se inicio el descubrimiento de nuevas clases de antibióticos” (28); “que se utilizaron amplia e indiscriminadamente y durante mucho tiempo, sin embargo, los microorganismos infecciosos desarrollaron vías de adaptación y resistencia como defensa para disminuir la eficacia de los antimicrobianos” (29). “La administración de antimicrobianos eliminan microorganismos patógenos sensibles y comensales, favoreciendo la perpetuación de microorganismos resistentes, por selección natural” (30); “siendo necesario el uso de nuevos fármacos, más costosos y tóxicos para el paciente” (31).

Resistencia de las bacterias a los antimicrobianos

“La resistencia de las bacterias a los antimicrobianos pueden ser natural, extrínseca o adquirida. La resistencia natural, como las bacterias gram negativas por las particularidades de su pared celular son impermeables a la penicilina G, impidiendo su acceso al blanco de acción; en otro caso, los micoplasmas por carecer de pared celular son resistentes a las penicilinas. También el organismo puede alterar el antibiótico pasándolo a una forma inactiva por la producción de enzimas que hidrolizan o modifican la molécula” (32).

“la resistencia extrínseca o adquirida, es la causa más importante de falla terapéutica y es de origen genético, producida por una mutación en el material genético o adquisición de ADN exógeno, que codifican el mecanismo de resistencia de las bacterias y permite el cambio de alguna cualidad que afecta al antimicrobiano o a su diana, finalmente dicha cepa será seleccionada de entre todas las existentes para perpetuarse; se transfieren estos genes mediante transformación, transducción y/o conjugación, la forma más eficaz y poderosa de propagación es por intermedio de los plásmidos R o factores R” (33).

“Las bacterias puede presentar uno o más mecanismos de resistencia, que pueden ser mecanismos genéticos y/o bioquímicos, además, estos mecanismos pueden coexistir simultáneamente en la misma bacteria” (34).

“El mecanismo bioquímico más utilizado por los bacilos Gram negativos para adquirir resistencia a los β – lactámicos, es la inactivación de las drogas por enzimas β – lactamasas, mecanismo involucrado en la presente investigación” (34).

Inactivación por β – lactamasas

“ β – lactamasas son enzimas cuyo substrato son los antibióticos β – lactámicos, los cuales son los más utilizados en la terapéutica frente a infecciones bacterianas. Los bacilos Gram negativos comúnmente adquieren resistencia a β – lactámicos, por mecanismos bioquímicos de

inactivación de drogas por las β – lactamasas, que hidrolizan el enlace amida del anillo β – lactámico de los antibióticos β – lactámicos, perdiendo capacidad para unirse a las proteínas de unión a penicilina (PBPs), y dando así lugar a compuestos sin actividad antibacteriana, constituyen el mecanismo de resistencia más difundido entre la población bacteriana” (35).

Clasificación de las β – lactamasas

a) Clasificación de Ambler (1980). “En base a los mecanismos de interacción enzima – sustrato y la similitud en las secuencias de aminoácidos de las betalactamasas (estructura molecular), se dividen en serin – β – lactamasas (clases A, C y D) y metalo – β – lactamasas (clase B). Las primeras, se caracterizan por tener serina en su centro activo; mientras las segunda, requieren un ion metálico bivalente como el zinc para su actividad. En la Tabla 1 se representa un esquema de esta clasificación” (35).

Tabla 1. Clasificación de β – lactamasas, según Ambler

	Clases	Tipos de enzimas	Ejemplos
Serina β – lactamasa	A	Penicilinasas	
		Amplio espectro	PC1: <i>S. aureus</i> TEM-1, SHV-1: <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella p.</i> y otras gramnegativas
		Espectro extendido (BLEE)	En enterobacterias: TEMderivadas, SHV-derivadas, CTX-M derivadas y otras.
		Carbapenemasas	KPC-1, KPC-2, KPC-3 en <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	C	Cefalosporinasas	Enzimas <i>AmpC</i> en enterobacterias y <i>Acinetobacter baumannii</i>
	D	Oxacilinasas	
		Amplio espectro	Familia OXA en <i>P. aeruginosa</i>
		Espectro extendido	OXA-derivados en <i>P. aeruginosa</i>
		Carbapenemasas	OXA-derivados en especies de <i>Acinetobacter</i>
Metallo β – lactamasa	B	Carbapenemasas	IPM, VIM, GIM, SPM, linajes SIM en <i>P. aeruginosa</i> , especies de <i>Acinetobacter</i>

Fuente: Ambler, 1980.

b) Clasificación de Bush – Jacoby (2010). “En base a su perfil hidrolítico y sus inhibidores (relación del perfil de sustrato y sensibilidad a inhibidores de β – lactamasas con la estructura molecular), se distinguen cuatro categorías y múltiples subgrupos. Esta clasificación es la más útil debido a que considera los inhibidores de β – lactamasas y los sustratos de los β – lactámicos. En la Tabla 2 se representa un esquema de esta clasificación” (36).

Tabla 2. Clasificación de las betalactamasas, según Bush – Jacoby

Grupo Bush – Jacoby (2009)		Clase molecular		Substratos preferidos	Inhibido AC	Inhibido EDTA	Principales características	Enzimas representativas	
		Subclase							
1	1	C		Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de benzilpenicilina	AmpC, P99, ACT – 1, CYM – 2, FOX – 1, MIR – 1 GC1, CMY – 37 IR-1.	
	1e						Hidrólisis incrementada a ceftazidima y otros oximino – β – lactámicos		
2	2a	A		Penicilinas	Si	No	Mejor hidrólisis de benzilpenicilina que de cefalosporinas	PC1	
	2b			Penicilinas Cefalosporinas			Hidrólisis similar de benzilpenicilinas y de cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV-1	
	2be			Cefalosporinas de espectro extendido Monobactámicos			Hidrólisis incrementada a ceftazidima y otros oximino – β – lactámicos (cefotaxima, ceftriaxona, cefepime)	TEM – 3, SHV – 2, CTX – M – 15, PER – 1, VEB – 1	
	2br			Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulfabactam y tazobactam	TEM – 30, SHV – 10	
	2ber			C. esp. extendido Monobactámicos			Hidrólisis incrementada hacia oximino – β – lactámicos combinados con resistencia a AC, sulfabactam y tazobactam	TEM – 50	
	2c			Carbencilinas	Si	No	Hidrólisis incrementada de la carbencilina	PSE – 1, CARB – 3	
	2ce			Carbencilinas Cefepime			Hidrólisis incrementada de la carbencilina, cefepime y cefpirome	RTG – 4	
	2d			D	Cloxacilina	V	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina	OXA – 1, OXA – 10
	2de				C. esp. extendido			Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y oximino-beta-lactámicos	OXA – 11, OXA – 15
	2df				Carbapenems			Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y carbapenems	OXA – 23, OXA – 48
	2e			A	C. esp. extendido	Si	No	Hidrolisis de cefalosporinas Inhibido por ácido clavulánico pero no por aztreonam	CepA
2f	Carbapenems	V	No		Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino – β – lactámicos, cefamicinas	KPC – 2, IMI – 1, SME – 1			
3	3a	B	1	Carbapenems	No	Si	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams	IMP – 1, VIM – 1, CrA, IND – 1	
	3b		3					L1, CAU – 1, GOB – 1, FEZ – 1	
			2	Carbapenems	No	Si	Hidrólisis preferente de carbapenems	CphA, Sfh – 1	

Fuente: Adaptado de Bush y Jacoby, 2010.

Inhibidores de β – lactamasas.

“La administración conjunta de un β – lactámico y un inhibidor de β – lactamasas, no modifica las propiedades farmacocinéticas de cada uno de los componentes considerados individualmente, ampliándola. El ácido clavulánico, es el primer inhibidor de las β – lactamasas que se empezaron a comercializar en la década de 1980, cuyo nombre deriva de *Streptomyces clavuligerus* que la produce. Tiene una actividad antibacteriana intrínseca insignificante, a pesar de compartir el anillo β – lactámico. Sin embargo, la similitud en la estructura química permite a la molécula interactuar con la enzima β – lactamasa secretada por ciertas bacterias para conferir resistencia contra los antibióticos betalactámicos. El ácido clavulánico es un inhibidor suicida, se une covalentemente al sitio activo de un residuo de serina de la β – lactamasa, restableciendo la actividad antimicrobiana de los antibióticos β – lactámicos contra bacterias productoras de β – lactamasas plasmídicas y algunas cromosómicas, pero no contra las productoras de β – lactamasas cromosómicas inducibles (*Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella* y *P. aeruginosa*). Se dispone de la combinación de amoxicilina – ácido clavulánico que a dosis de 875 – 1g cada 8 horas oral/intravenosa, puede usarse para el tratamiento de pacientes con infecciones respiratorias por bacterias productoras de β – lactamasas (*H. influenzae* y *Moraxella catarrhalis*), así como en infecciones de partes blandas e intraabdominales no graves. El aumento en la prevalencia de resistencias entre las enterobacterias limita su uso empírico en infecciones graves de la comunidad. No aporta mayor actividad que amoxicilina en monoterapia en el tratamiento de infecciones neumocócicas respiratorias ya que las resistencias se debe a alteración (permeabilidad plasmática) y no a la producción de β – lactamasas” (37).

“**Sulbactam** es una sulfona del ácido penicilánico que al unirse a la ampicilina restablece su actividad antibacteriana. Sulbactam por si solo tiene una buena actividad frente a *Acinetobacter baumannii*, variable según las áreas geográficas. **Tazobactam**, al unirse a piperacilina restablece su actividad frente a *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris* y *Citrobacter diversus*, *Streptococcus* y *P. aeruginosa*; es el más usado, en el tratamiento empírico inicial de diversas infecciones graves, especialmente las de tipo mixto (flora polibacteriana). Todos los inhibidores de β – lactamasa en asociación con penicilina tienen una alta eliminación bilio – entérica, por lo que se asocian a diarreas por *Clostridium difficile*. **Avibactam**, es un inhibidor no β – lactámico y se están realizando ensayos clínicos en distintas fases combinadas con ceftazidima, una cefalosporina con actividad antipseudomónica que podría ampliar el espectro frente a BLEE, cepas productoras de Amp – C y de carbapenemasas” (38).

Detección fenotípica de BLEE, según Jarlier (SFM – Francia)

“Basado en la sinergia entre los antibióticos betalactámicos: cefalosporina de tercera generación (ceftazidima “CAZ”, cefotaxima “CTX” y ceftriaxona “CRO”) y monobactamos (aztreonam “ATM”) colocados alrededor de un disco de amoxicilina/acido clavulánico (AMC) de 20/10 µg” (39).

Antibióticos β – lactámicos

“Es el principal grupo de antibióticos y el más utilizado para el tratamiento de las infecciones humanas. En 1928 Fleming observó el efecto inhibitor del *Penicillium*, un hongo filamentoso, sobre el crecimiento de bacterias en una placa de cultivo, pero fue en la década de los 40, cuando se consigue la producción industrial de la penicilina gracias a los estudios de Florey y Chain” (40). “Estos antibióticos presentan como estructura básica el anillo betalactámico, formado por la condensación de alanina y beta – dimetilcisteína” (41).

Mecanismo de acción de los antibióticos β – lactámicos

“Los antibióticos β – lactámicos tienen acción bactericida, actúan impidiendo la síntesis de la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, que es el componente que confiere estabilidad y rigidez a la bacteria, protegiéndola de la rotura osmótica. Estos antibióticos se unen a lo que se denomina genéricamente como proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), cuya función es catalizar una serie de reacciones de transpeptidación y carboxipeptidación necesarias para la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana. Los betalactámicos actúan también activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano” (41).

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 Lugar y fecha de ejecución

La investigación se llevó en los Distritos de Chincha Alta y Alto Laran de la Provincia de Chincha del Departamento de Ica – Perú.

Localización geográfica y meteorológica:

- Latitud.....13° 27'45''
- Longitud.....76° 08'00''
- Altitud.....50 msnm
- Temperatura mínimo en promedio.....19,25 °C
- Temperatura máxima en promedio.....26,95 °C
- Humedad Relativa m. promedi.....58,75 %
- Humedad Relativa M. promedio.....93,25 %

Fuente: Estación Meteorológica de Chincha (FONAGRO – 2019)

El estudio se llevó a cabo durante los meses de octubre del 2021 a enero del 2022.

2.2 Instalaciones utilizadas

- Mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta.
- Laboratorio de Investigación en Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad “San Luis Gonzaga” Ex fundo Hijaya (Camino Real) Alto Laran.

2.3 Materiales, equipos y reactivos

Materiales:

- Placas petri de plástico descartables de 90 x 15 mm.
- Pipetas descartables de plásticos de 1 y 10 mL.
- Bolsas de medio kilo plegables.
- Hisopos esteriles.
- Lápiz marcador.
- Caja térmica.

Equipos:

- Autoclave.
- Estufa.
- Incubadora bacteriológica.
- Cabina de bioseguridad.
- Balanza digital de precisión.
- Mechero de bunsen.

Reactivos:

- Agar Mac conkey.
- Agar tripticasa de soya (TSA).
- Agar triple azúcar hierro (TSI).
- Agar lisina hierro (LIA).
- Agar citrato.
- Agar MIO.
- Agar Muller Hinton.
- Discos de sensibilidad para la detección de *E. coli* productora de BLEE (amoxicilina/ácido clavulánico, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam).
- Disco de sensibilidad para el perfil de resistencia de la *E. coli* (cefalotina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, sulfa – trimetoprim, cloranfenicol, azitromicina, amoxicilina, tetraciclina, cefepime, gentamicina, colistina, meropenem, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam).

2.4 Tipo de investigación

Epidemiológica, no experimental (Estudio prospectivo – transversal – de nivel descriptivo).

2.5 Metodología de la Investigación

Población de estudio:

E. coli aisladas de quesos que se comercializan en 17 puestos en los mercados (abasto: 4 y parada: 13) del Distrito de Chincha Alta, 2022. A partir del mercado de abasto se aisló una cepa bacteriana y de la parada se obtuvieron 4 cepas de dos puestos de venta.

Muestreo:

- Se compraron 100 gramos de quesos de cada establecimiento de venta, etiquetados y transportados en un culer al laboratorio de Bacteriología de la FMVZ – UNICA. Ver anexos 1 y 2.

Aislamiento de *Enterobacteriaceae*

- “Se mezcló 10 g de queso con 90 mL de agua peptonada en una bolsa plegable.
- Se sembró por estría en agar mac conkey y se incubó durante 18 – 24 horas a una temperatura de 37 °C. Ver anexo 3”(42).
- “Se seleccionaron las colonias de borde entero de 2 – 3 mm de diámetro, usualmente rodeadas de una zona opaca (bilis precipitada) y lactosas positivas (color fucsia). Ver anexo 4” (42)
- “Las colonias seleccionadas se sembraron en TSA y se incubaron durante 18 – 24 horas a una temperatura de 37 °C. Ver anexo 5” (42).

Identificación bioquímica de *Escherichia coli*

- “Las colonias en TSA, se trasplantaron por estría en agar citrato; por picadura y estría (agares TSI y LIA); por picadura en medio MIO y se inocularan en medio Clark y Lubs para rojo de metilo (MR) y voges proskauer (VP).
- Se incubaron de 35 – 37 °C. Ver anexo 6” (42).

Lectura en el agar TSI

- “La lectura, se realizó entre las 18 – 24 horas para no obtener resultados erróneos” (42).

Controles	Columna vertical (fondo)	Superficial inclinada
<i>E. coli</i>	amarillo/con gas	amarillo
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	amarillo/con gas	amarillo

Lectura en el LIA

- La lectura, se realizó entre las 18 – 24 horas; si la lectura se realiza antes podemos obtener resultados falsos positivos y falsos negativos si se lee después de las 24 horas.

Controles	Columna vertical (fondo)	Superficial inclinada
<i>E. coli</i>	amarillo	violeta
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	amarillo	violeta

Lectura en el agar citrato

- “La lectura, se realizó de 24 horas – 48 horas. En algunos casos es necesario una incubación hasta por 4 días. Resultado positivo (crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta, o presencia de colonias en ausencia del color azul) y resultado negativo (sin crecimiento en la superficie del medio ni cambio de verde a azul)” (42).

Lectura en el agar citrato

Controles	Resultados
<i>E. coli</i>	Negativo
<i>K. pneumoniae</i>	Positivo
<i>K. oxytoca</i>	Positivo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo

Lectura del rojo de metilo

- “La lectura, se realizó en el medio de Clark y Lubs, después de ser incubado a 35 – 37 °C de 48 a 72 horas para lo cual se añadió 3 gotas del reactivo rojo de metilo (indicador de pH).

- El desarrollo de un color rojo estable en la superficie del medio indica que la producción de ácido es suficiente como para bajar el pH a 4,4 y es una prueba positiva. Un color naranja (pH 5 a 5,8) indica una prueba negativa” (42).

“Controles:

- Positivo: *E. coli*
- Negativa: *Klebsiella pneumoniae*” (42).

Lectura del voges proskauer

- “Se realizó en el medio de Clark y Lubs, después de ser incubado a 35–37 °C por 24 – 48 horas para lo cual se añadió 0,6 mL de α naftol al 5 % y 0,2 mL de KOH al 40 %.
- Se agitó el tubo cuidadosamente (para exponerlo al oxígeno atmosférico) y se dejó en reposo durante 10 a 15 minutos” (42).
- **“Resultados:** Positivo (desarrollo de un color rojo–rosado en la superficie del medio por la capacidad de algunas bacterias de degradar la glucosa hasta acetilmetilcarbinol (acetoina) a través de un proceso de fermentación) y negativo, mantiene su color” (42).

“Controles:

- Positivo: *Klebsiella pneumoniae*.
- Negativo: *E. coli*” (42).

Lectura del Medio MIO (Movilidad – Indol – Ornitina descarboxilasa)

- “La lectura, se realizó después de la incubación en aerobiosis, durante 18 – 24 horas a 35 – 37 °C” (42).

“Movilidad:

Resultado positivo: presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.

Resultado negativo: crecimiento solamente en la línea de siembra” (42).

Indol

- “Para determinar la capacidad de la bacteria para producir indol a partir del triptófano, se le adicionó 3 gotas del reactivo de kovacs.
- Resultados: positivo (anillo de color rojo en la superficie) y negativo (permanece incoloro – amarillento)” (42).

Ornitina decarboxilasa:

- “Resultado positivo: color púrpura
- Resultado negativo: color amarillo. A veces se puede desarrollar un color violáceo en la superficie del medio” (42).

Se realizó, la identificación de *E. coli* de acuerdo a la tabla 1.

Tabla 3. Principales características bioquímicas de *Escherichia spp.*

Prueba	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> inactiva	<i>E.</i> <i>fergusonii</i>	<i>E. hemanni</i>	<i>E. vulneri</i>
Indol	98	80	98	99	0
Rojo de metilo	99	95	100	100	100
Voges Proskauer	0	0	0	0	0
Citrato (Simmons)	1	1	17	1	0
Hidrógeno sulfurado (TSI)	1	1	0	0	0
Hidrólisis de urea	1	1	0	0	0
Lisina descarboxilasa	90	40	95	6	85
Arginina descarboxilasa	17	3	5	0	30
Ornitina descarboxilasa	65	20	100	100	0
Motilidad	95	5	93	99	100
Hidrólisis gelatina (22° C)	0	0	0	0	0
Acidez D – glucosa	100	100	100	100	100
Gas D – glucosa	95	5	95	97	97
Lactosa (fermentación)	95	25	0	45	15
ONPG	95	45	83	98	100

Fuente: Farmer, 1999.

Cada número representa el porcentaje de reacciones positivas después de dos días de incubación a 36 °C. La mayoría de estas reacciones positivas suceden dentro de las 24 horas. Las reacciones que se vuelven positivas después de los dos días no se consideran.

Determinación del perfil de resistencia antibacteriana de *Escherichia coli*

- “Se realizó, según disco difusión estándar (Método de Kirby Bauer).
- Se preparó, el inóculo de *E. coli* en solución salina y se ajustó a una suspensión bacteriana de 0,5 de la escala de Mc Farland (aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL).
- Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo, se cogió una muestra con un hisopo estéril, se presionó contra las paredes del tubo por encima del líquido a fin de escurrir el exceso de inóculo y se sembró por disseminación sobre la superficie del agar Muller Hinton en tres direcciones, rotando la placa 60 °C cada vez para asegurar una completa distribución del inóculo.
- Con pinza estéril, se colocaron los discos sobre la superficie del agar aplicando una ligera presión a una distancia no menor de 24 mm. desde su centro al otro. Se colocaron 6 discos por placa de 90 x 15 mm, considerándose para el estudio los discos de sensibilidad (cefalotina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, Sulfameoxazol/Trimetoprim, cloranfenicol, azitromicina, amoxicilina, tetraciclina, cefepime, gentamicina, colistina, meropenem, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam).
- Se incubaron las placas invertidas a 35 ± 2 °C” (42).

Lectura:

- Después de 16 a 18 horas de incubación, se examinaron cada placa y se midieron los diámetros de los halos de inhibición.

Determinación fenotípica de BLEE, según Jarlier (SFM – Francia)

- “Se realizó, según disco difusión estándar (Método de Kirby Bauer).
- Se preparó, el inóculo de *E. coli* en solución salina y se ajustó a una suspensión bacteriana de 0,5 de la escala de Mc Farland (aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL).
- Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo, se cogió una muestra con un hisopo estéril, se presionó contra las paredes del tubo por encima del líquido a fin de escurrir el exceso de inóculo y se sembró por disseminación sobre la superficie del agar Muller Hinton en tres direcciones, rotando la placa 60°C cada vez para asegurar una completa distribución del inóculo.
- Con pinza estéril, se disponen los discos de Ceftazidima (30 mg), Cefotaxima (30 mg), Aztreonam (30 mg) y Ceftriaxona a 20 mm del disco de Amoxicilina/Acido clavulánico (20/10 mg) (distancia de centro a centro de los discos) y se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 16 – 20 horas” (39).

Lectura

- “Si una imagen de sinergia aparece entre el disco Amoxicilina/Acido clavulánico y los discos de Ceftazidima y/o Cefotaxima y/o Aztreonam y/o Ceftriaxona, se considera la prueba positiva” (39).

2.6 Variables en estudio

Variable independiente: *E. coli* aislados de quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta.

Variable dependiente: *E. coli* productora de BLEE y su perfil de resistencia por el uso de antibacterianos.

2.7 Análisis estadístico

Para determinar la prevalencia de la *E. coli* productora de BLEE y su perfil de resistencia antibacterina, se empleó la siguiente fórmula de la prevalencia de periodo:

$$P = \frac{\text{Reactores positivos}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

Con:

$$IC = p \pm z \sqrt{\frac{pq}{n}}$$

Donde:

- IC = Índice de confianza
- p = Prevalencia
- Z = Nivel de confianza
- q = 1 - p
- n = Tamaño de la muestra

III. RESULTADOS

De los 17 puestos que comercializan quesos, 3 (abasto: 1 y parada: 2), 3/17 (17,64 %) contaminados con *E. coli*. Se aislaron 5 cepas de *E. coli* para determinar su perfil de resistencia antimicrobiana que se muestran en la tabla 4, anexos (7 y 8); y su producción de BLEE, se evidencia en la tabla 5.

Tabla 4. Perfil de resistencia a los antibacterianos de *Escherichia coli* aislados en quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta, Febrero del 2022.

Antimicrobianos	Perfil de resistencia			Totales	Totales en %		
	Sensible (S)	Intermedio (I)	Resistente (R)		S	I	R
Cefalotina	0	0	5	5	0	0	100
Amoxicilina	0	0	5	5	0	0	100
Tetraciclina	1	0	4	5	20	0	80
Ácido nalidíxico	2	0	3	5	40	0	60
Sulfa – Trimetroprim	2	0	3	5	40	0	60
Cloranfenicol	2	0	3	5	40	0	60
Colistina	0	3	2	5	0	60	40
Ciprofloxacina	1	3	1	5	20	60	20
Ceftazidima	5	0	0	5	100	0	0
Cefotaxima	5	0	0	5	100	0	0
Ceftriaxona	5	0	0	5	100	0	0
Cefepime	5	0	0	5	100	0	0
Aztreonam	5	0	0	5	100	0	0
Gentamicina	5	0	0	5	100	0	0
Azitromicina	5	0	5	5	100	0	0
Meropenem	5	0	5	5	100	0	0

El 100 % de cepas de *E. coli*, fueron sensibles: cefalosporina de tercera generación (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona), cuarta generación (cefepime), aminoglucósidos (gentamicina), macrólidos (azitromicina), monobactamos (aztreonam) y carbapenemos (meropenem).

El 60 % de cepas de *E. coli*, con resultados intermedios: colistina y quinolona de segunda generación (ciprofloxacina).

El 100 % de cepas de *E. coli*, fueron resistentes: cefalosporina de primera generación (cefalotina) y penicilina de amplio espectro (amoxicilina). Resistencia variable: tetraciclinas (80

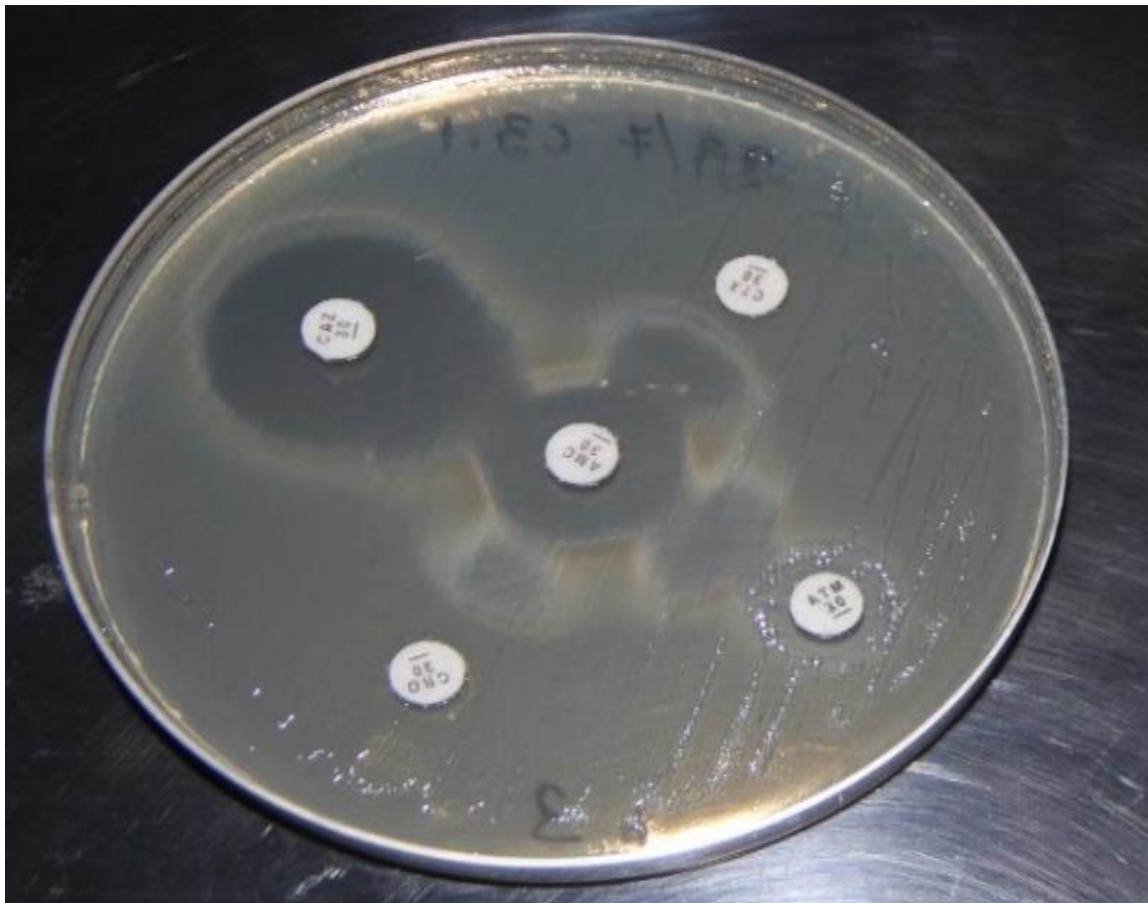
); quinolona de primera generación (ácido nalidixico), sulfamida – trimetoprim y cloranfenicol (60 %); colistina (40 %) y quinolona de segunda generación (20 %).

Tabla 5. *Escherichia coli* productora de BLEE aislados en quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chíncha Alta, Febrero del 2022

Positivo (P)	Negativo (N)	Totales	Totales en %	
			P	N
0	5	5	0	100,00

En el 100 % de las cepas de *E. coli*, no se evidenció la sinergia entre el disco Amoxicilina/Ácido clavulánico y los discos de (Ceftazidima, Cefotaxima, Aztreonam y Ceftriaxona) y se considera como una prueba negativa.

Figura 1. Determinación fenotípica de BLEE, según Jarlier (SFM – Francia)



En la figura 1, se evidencia la sinergia entre el disco Amoxicilina/Ácido clavulánico y los discos de (Ceftazidima, Cefotaxima, Aztreonam y Ceftriaxona) y se considera como una prueba positiva.

IV. DISCUSIÓN

En el estudio se detectó 17,64 % de las muestras de quesos contaminados con *E. coli* no productora de BLEE. El 100 % de cepas de *E. coli*, fueron sensibles: cefalosporina de tercera generación (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona), cuarta generación (cefepime), aminoglucósidos (gentamicina), macrólidos (azitromicina), monobactamos (aztreonam) y carbapenemos (meropenem). El 60 % con resultados intermedios para colistina y quinolona de segunda generación (ciprofloxacina). El 100 % fueron resistentes: cefalosporina de primera generación (cefalotina) y penicilina de amplio espectro (amoxicilina). Resistencia variable: tetraciclinas (80 %); quinolona de primera generación (ácido nalidixico), sulfametoxazol – trimetoprim y cloranfenicol (60 %); colistina (40 %) y quinolona de segunda generación (20 %). Resultados que no coincide con lo reportado por “Arslan y Özdemir en Turquía (2008), en lo referente a la *E. coli* productora de BLEE con una prevalencia de 9,9 % y con respecto a su perfil de resistencia antibacteriana: concide con la sensibilidad a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, monobactamos y carbapenemos; no coincide con la resistencia a la penicilina de amplio espectro de 68, 60 % comparado con nuestro estudio de 100 % y además reportan para cefalosporina de segunda generación (69,10 %)” (11).

Se determinó en Turquía (2014), la contaminación de alimentos de origen animal (100 carne cruda de pollo, 100 leche cruda de vaca y 50 quesos crudos de leche de vaca) con 55/250 (22 %) de Enterobacteriaceae productoras de BLEE, siendo la más prevalente la *E. coli* (80 %), seguidos de: *Enterobacter cloacae* (9,1 %), *Citrobacter braakii* (5,5 %), *Klebsiella pneumoniae* (3,6 %) y *Citrobacter werkmanii* (1,8 %). Se detectó la producción simultánea de BLEE y AmpC en cinco aislamientos (9,1 %) en *E. coli* (80 %) y *E. cloacae* (20 %). En resumen, se encontró que los alimentos analizados presentan riesgo para la salud de los consumidores turcos debido a la contaminación por Enterobacteriaceae con una diversidad de genes que codifican BLEE” (7); resultados muy superiores a los reportados por Arslan y Özdemir y nuestro estudio.

“En los mercados de Samsun (2019). Se recolectaron 150 quesos, de los cuales se aislaron 148 cepas, correspondiendo, 79 *E. coli* (52,66 %), cuyo resultado es superior a los obtenidos en nuestro estudio de 17, 64 %; además obtuvieron: 39 *Klebsiella pneumoniae* (26,00 %), 16 *Klebsiella oxytoca* (10,67 %), 5 *Citrobacter youngae* (3,33 %), 4 *Shigella boydii* (2,67 %), 2 *Klebsiella ozaenae* (1,33 %), 2 *Enterobacter cloacae* (1,33 %), y 1 *Enterobacter aerogenes* (0,67 %). También identificaron 34 (22, 67 %) cepas productoras de BLEE. Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se identificaron que portaban genes de resistencias: 64 de tipo blaCTX – M (43,24 %), 39 blaTEM (26,35 %) y 16 blaSHV (10,81 %). Se concluyó que los quesos que se comercializan en los mercados son una fuente importante de bacterias entéricas que pueden producir BLEE” (14).

V. CONCLUSIONES

- 5.1 Moderada contaminación de los quesos por *Escherichia coli* que se comercializan en los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chicha Alta.
- 5.2 No se ha detectado *E. coli* productora de beta lactamasa de espectro extendido (BLEE) procedente de los quesos de los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chicha Alta.
- 5.3 Las cepas de *E. coli* son sensibles a la mayoría de los betalactámicos (cefalosporina de tercera y cuarta generaciones, monobactamos y carbapenemos), aminoglucósidos y macrólidos.
- 5.3 *E. coli* con resultados intermedios para la colistina y quinolona de segunda generación.
- 5.4 *E. coli* resistentes a la cefalosporina de primera generación y penicilina de amplio espectro.
- 5.5 *E. coli* con resistencia variable para las tetraciclinas, quinolonas de primera generación, sulfa – trimetoprim, cloranfenicol, colistina y quinolona de segunda generación.

VI. RECOMENDACIONES

- 6.1 Ordenar la comercialización de los quesos en los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha Alta.
- 6.2 Mantener en refrigeración los quesos que se comercializan en los mercados (abasto y parada) del Distrito de Chincha.
- 6.3 Certificación microbiológica de los quesos que se comercializan en los mercados (abasto y parada) del Distritos de Chincha Alta.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, et al. Antibiotic resistance – the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013;13:1057–1098.
2. Rupp ME, Fey PD. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) – producing Enterobacteriaceae: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs*. 2003;63:353–365.
3. Von Salviati C, Laube H, Guerra B, Roesler U, Friese A. Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Vet Microbiol*. 2015;175:77–84.
4. Giedraitienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilionis A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas)*. 2011;47:137–146.
5. Liebana E, Carattoli A, Coque TM, et al. Public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum β – lactamases or AmpC β – lactamases in food and food-producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors, and control options. *Clin Infect Dis*. 2013; 56:1030–1037.
6. Fernandes R, Amador P, Oliveira C, Prudêncio C. Molecular characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Northern Portugal. *Sci World J*. 2014;2014:782897, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/782897>.
7. Reuland EA, al Naiemi N, Raadsen SA, Savelkoul PHM, Kluytmans JAJW, Vandenbroucke-Grauls CMJE. Prevalence of ESBL – producing Enterobacteriaceae in raw vegetables. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33:1843–2184.
8. Castillo-Tokumori F1, Irey-Salgado C1, Málaga G. Worrysome high frequency of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections: a case-control study. *Int J Infect Dis*. 2017; 55:16 – 19.
9. EFSA. Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β – lactamases and/or AmpC β – lactamases in food and food-producing animals. *EFSA J*. 2011; 9:2322–2417.
10. Adler, A., Katz, D. E., & Marchaim, D. The Continuing Plague of Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2016; 30(2), 347–75. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.003>.

11. Arslan, S. and Özdemir, F. Extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated from homemade white cheeses: prevalence and antibiotic susceptibility. *World J Microbiol Biotechnol.* 2008; 24, 2361–2364.
12. Hakkı, I. and Özpınar, H. Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Brazilian journal of microbiology.* 2016; 47, 444 – 451.
13. Seda, Tepeli and Nükhet, N. Frequency of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)– and AmpC β -lactamase–producing Enterobacteriaceae in a cheese production process. *J. Dairy Sci.* 2018; 101, 2906 – 2914.
14. Husán, Omar and Çadirci, Özgür. Determination of extended spectrum β – lactamase producing Enterobacteriaceae from cheese samples sold in public bazaars. *J food seg;* 2019;39:e12680.
15. Hernandez, J. R., L. Martinez-Martinez, et al. Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(5): 2122-5.
16. Mandell, G., B. JE, et al. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 2005;1, 881 – 883.
17. Thomas, T., & College, C. Theodor Escherich, who discovered the *E. coli* bacterium. *CMI,* 54. [Octubre de 2015]. Disponible en: <https://cmijournal.files.wordpress.com/2015/10/52-54-history-of-medicine-theodor-escherich.pdf>.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Escherichia coli* General Information. [en línea] 2015 [Accessed april 1st, 2017]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.
19. Bajaj, P., Singh, N. S., & Viridi, J. S. *Escherichia coli* β – Lactamases: What Really Matters. *Frontiers in Microbiology.* 2006; 7, 417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00417>.
20. Maltby, R., Leatham-Jensen, M. P., Gibson, T., Cohen, P. S., & Conway, T. Nutritional Basis for Colonization Resistance by Human Commensal *Escherichia coli* Strains HS and Nissle 1917 against *E. coli* O157:H7 in the Mouse Intestine. *PLoS ONE.* 2013; 8(1), e53957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053957>.

21. Hara Kudo, Y., & Takatori, K. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiology and Infection*. 2011; 139(10), 1505–1510. <https://doi.org/10.1017/S095026881000292X>.
22. Capita, R., & Alonso-Calleja, C. Antibiotic-Resistant Bacteria: A Challenge for the Food Industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013; 53(1), 11–48. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519837>.
23. Harris, A. D., McGregor, J. C., Johnson, J. A., Strauss, S. M., Moore, A. C., Standiford, H. C., ... Morris, J. G. Risk Factors for Colonization with Extended-Spectrum β -Lactamase-producing Bacteria and Intensive Care Unit Admission. *Emerging Infectious Diseases*. 2007; 13(8), 1144–1149. <https://doi.org/10.3201/eid1308.070071>.
24. Asir, J., Nair, S., Devi, S., Prashanth, K., Saranathan, R., & Kanungo, R. Simultaneous gut colonisation and infection by ESBL-producing *Escherichia coli* in hospitalised patients. *The Australasian Medical Journal*. 2015; 8(6), 200–7. <https://doi.org/10.4066/AMJ.2015.2358>.
25. Blane, B., Brodrick, H. J., Gouliouris, T., Ambridge, K. E., Kidney, A. D., Ludden, C. M., ... Peacock, S. J. Comparison of 2 chromogenic media for the detection of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae stool carriage in nursing home residents. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2016; 84(3), 181–3. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.008>.
26. Tängdén, T., Cars, O., Melhus, A., & Löwdin, E. Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010; 54(9), 3564–8.
27. Rocha-Gracia, R. C., Cortés-Cortés, G., Lozano-Zarain, P., Bello, F., Martínez-Laguna, Y., & Torres, C. Faecal *Escherichia coli* isolates from healthy dogs harbour CTX-M-15 and CMY-2 β -lactamases. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*. 2015; 203(3), 315–9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.12.026>.
28. Acuña, G. Descubrimiento de la Penicilina: Un Hito de la Medicina Cómo el azar puede ayudar al Científico. Elsevier. 2002; 13(1). Obtenido de <http://www.elsevier.es>.
29. Patiño, D. ¿Por qué las bacterias se hacen resistentes a la acción de los antibióticos? *Umbral Científico* (3), 56. [3 de Diciembre de 2003]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30400307>.

30. Iglesias Leal, R. La teoría de la “selección natural” de Darwin se cumple también en el espacio exterior. Sistema de Información Científica Redalyc Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, 27. [1 de Julio – Septiembre de 2009]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=441942917005>.
31. Cabrera, C., Gómez, R., & Zuñiga, A. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia Médica. 2007; 38(2), 11.
32. Durich, J. Resistencia a los antibióticos. Medicina integral. 2000; 36,10.
33. Norman, A., Hestbjerg Hansen, L., Qunxin , S., & Johannes Sørensen, S. Nucleotide sequence of pOLA52: A conjugative IncX1 plasmid from Escherichia coli which enables biofilm formation and multidrug efflux. Plasmid. 2008; 59-74. doi:10.1016/j.plasmid.2008.03.003.
34. Tafur, J., Torres, J., & Villegas, M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Asociación Colombiana de Infectología. [Septiembre de 2008] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v12n3/v12n3a07.pdf>.
35. B, & Ambler, R. The structure of B-lactamases. Philosophical transactions of the Royal Society A. 1980; 321-331. doi:10.1098/rstb.1980.0049.
36. Bush, K., Jacoby, G., & Medeiros, A. A Functional Classification Scheme for b-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1995; 39(6), 1211-1233.
37. Craig WA. Antibacterial Therapy. In (Goldman L, Ausiello D. Eds) Cecil – Medicine. Philadelphia. Saunders – Elsevier Co. 2008; 23th Edition: 2150 – 2165.
38. Gómez Ruiz MD, Gobernado M. Generalidades de los antimicrobianos. En (Gómez J, Gobernado M. Eds) Enfoque Clínico de los Grandes Síndromes Infecciosos. 5ª edición: 661 – 687. Madrid. Ergón Ed; 2013.
39. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 1998; 10(4): 867 – 78.
40. Joklik, W. K. The story of penicillin: the view from Oxford in the early 1950s. FASEB J. 1996; 10(4): 525-8.

41. Marin, M. and F. Gudiol. Beta – Lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21(1): 42-55.
42. Procop G, Church D, Hall G, Janda W, Koneman E, Schreckenberger P, Woods G. *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Médica Panamericana. 7a ed., Buenos Aires; 2017.

IX. ANEXO

Anexo 1. Puesto de venta de queso del mercado de abasto, Distrito de Chincha Alta.



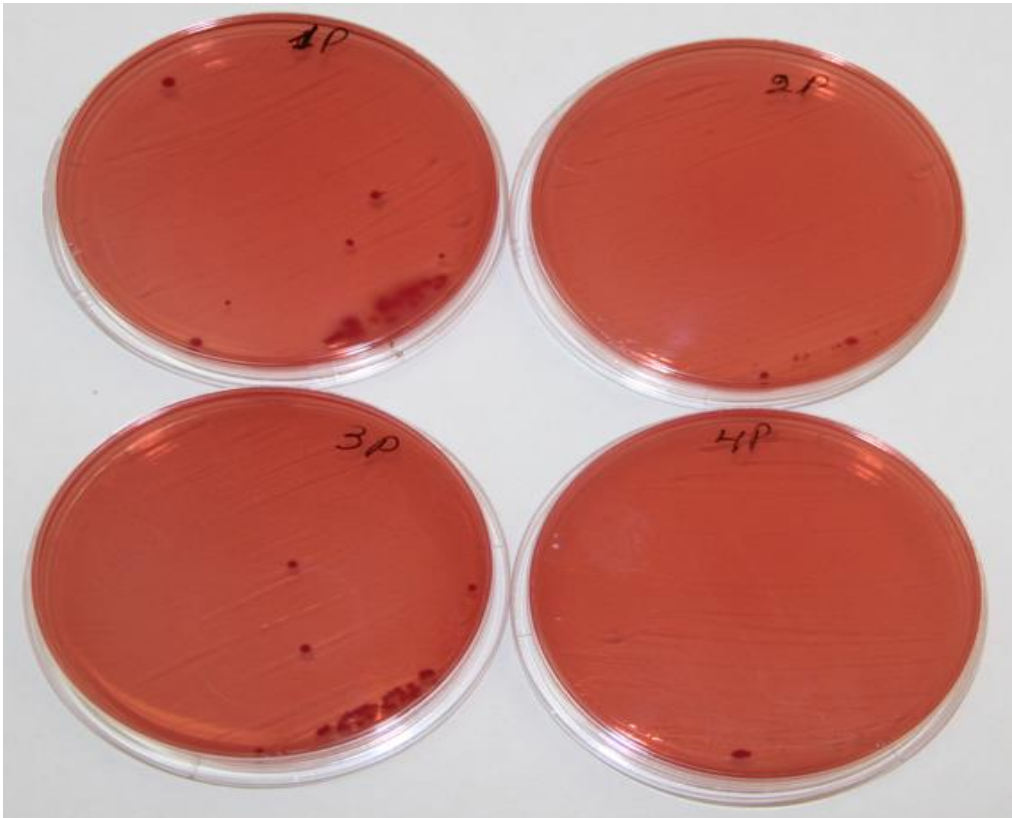
Anexo 2. Puesto de venta de queso del mercado de la parada, Distrito de Chincha Alta.



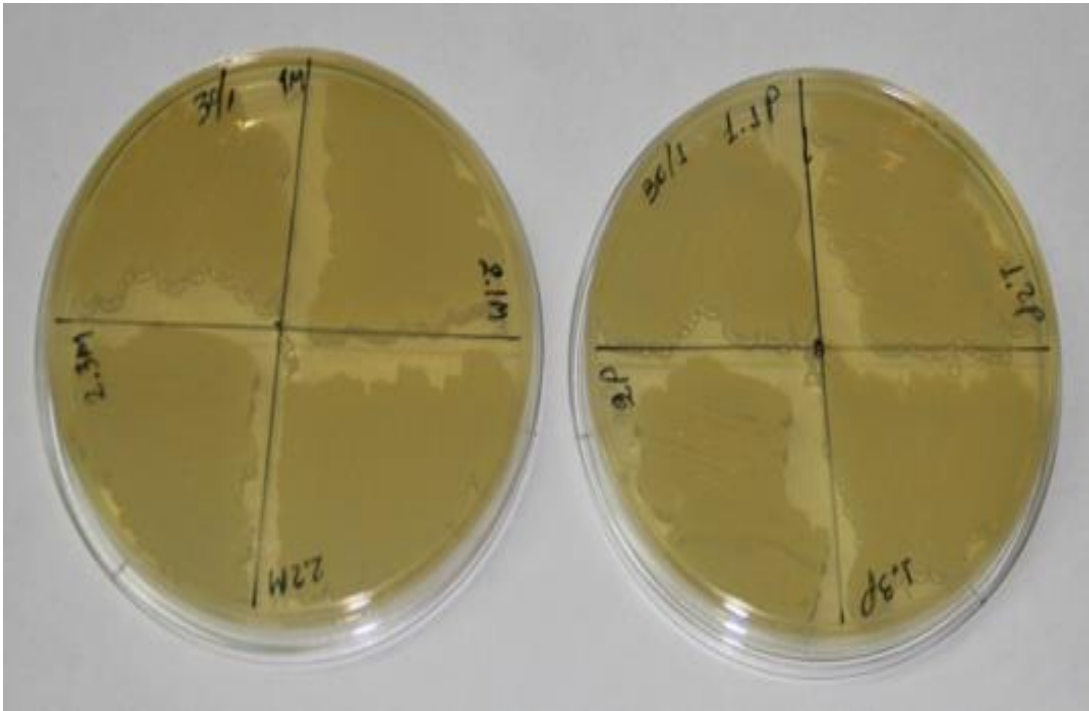
Anexo 3. Procesamiento de las muestras de quesos y siembra bacteriológica.



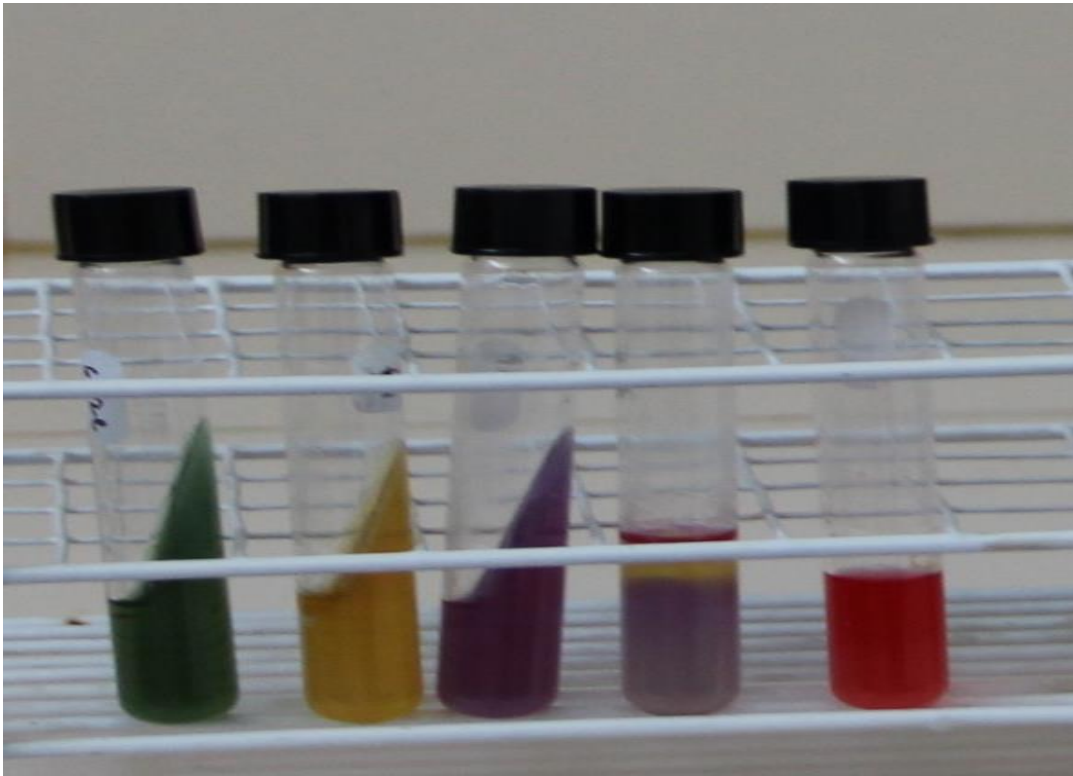
Anexo 4. Colonias de Enterobacteriaceae en agar mac conkey.



Anexo 5. Colonias de enterobacteriaceae en agar tripticasa de soya.



Anexo 6. Pruebas bioquímicas para identificación de *Escherichia coli*.



Anexo 7. Resultados del perfil de resistencia a los antibacterianos de *Escherichia coli*.

Antibacterianos Perfil de resistencia	Halos de inhibición en mm procedentes de cepas de <i>Escherichia coli</i>				
	1 M	1,2 P	10,1 P	10,2 P	10,3 P
1. Cefalotina	6 R	6 R	6 R	6 R	6 R
2. Ácido nalidixico	25 S	23 S	6 R	13 R	12 R
3. Ciprofloxacina	31 S	28 I	21 I	20 R	21 I
4. Sulfa – Trimetoprim	28 S	26 S	6 R	6 R	6 R
5. Cloranfenicol	23 S	24 S	6 R	6 R	6 R
6. Azitromicina	16 S	15 S	15 S	13 S	15 S
7. Amoxicilina	6 R	6 R	6 R	6 R	6 R
8. Tetraciclina	22 S	9 R	6 R	6 R	6 R
9. Cefepime	30 S	29 S	30 S	26 S	29 S
10. Gentamicina	18 S	17 S	19 S	17 S	17 S
11. Colistina	13 I	12 I	11 I	10 R	6 R
12. Meropenem	27 S	28 S	30 S	29 S	26 S
13. Ceftazidima	27 S	27 S	27 S	25 S	26 S
14. Cefotaxima	30 S	29 S	29 S	27 S	28 S
15. Ceftriaxona	32 S	30 S	30 S	28 S	29 S
16. Aztreonam	32 S	29 S	30 S	28 S	29 S

Anexo 8. Perfil de resistencia de *Escherichia coli*

