

26-2-2021



Informe final

“Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en la ciudad de Guatemala”

Equipo de investigación

M.V. MA. Flor Dinorah Porras López
(Coordinadora e Investigadora)

PhD. Jacqueline Escobar Muñoz (Investigadora)

Guatemala, 26 de enero de 2021

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Contraportada (reverso de la portada)

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril
Coordinadora del Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

M.V. MA. Flor Dinorah Porras López
Coordinadora del Proyecto

PhD. Jacqueline Escobar Muñoz
Investigadora

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2020. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala con código: DES-02-2020 durante el año 2020 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

Índice

1.	Resumen.....	5
2.	Palabras clave.....	5
3.	Abstract and keyword	5
4.	Introducción	6
5.	Planteamiento del problema.....	8
6.	Preguntas de investigación.....	9
7.	Delimitación en tiempo y espacio.....	9
8.	Marco teórico	9
8.1	Echerichia coli	9
8.2	Medios de cultivo selectivos.....	10
8.3	Cultivo bacteriano.....	10
8.4	Antibiograma	10
8.5	Consumo de carne de cerdo en Guatemala.....	11
8.6	Resistencia a los antimicrobianos.....	11
8.7	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	12
8.8	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR)	12
9	Estado del arte.....	12
10	Objetivo general	14
11	Objetivos específicos.....	14
12	Materiales y métodos.....	15
12.1	Enfoque y tipo de investigación	15
12.2	Método.....	15
12.3	Técnicas e instrumentos.....	15
12.4	Operacionalización de las variables o unidades de análisis.....	17
12.5	Procesamiento y análisis de la información.....	18
13	Vinculación, difusión y divulgación	18
14	Productos, hallazgos, conocimientos o resultados	18
15	Análisis y discusión de resultados.....	18
16	Conclusiones	20

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

17	Impacto esperado.....	21
18	Referencias	22
19	Apéndice.....	24

Índice de Tablas

Tabla 1	Operacionalización de las variables o unidades de análisis.....	17
Tabla 2	Conclusión por objetivo.....	20
Tabla 3	Distribución de la muestra en los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales.....	24

“Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en la ciudad de Guatemala”

1. Resumen

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de importancia mundial que afecta tanto en salud humana como animal afectando la respuesta a los tratamientos con antibióticos. *Escherichia coli* (*E. coli*) se ha utilizado como indicador de resistencia a los antibióticos en estudios anteriores. Es parte de la flora intestinal de animales y de humanos.

E. coli es capaz de intercambiar material genético con otras bacterias lo que provoca el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias receptoras de dicho material genético, es por este motivo que se realizó la presente investigación evaluando la resistencia los antibióticos por el método de Kirby Bauer de cepas de *E. coli* aisladas a partir de 76 muestras de carne de cerdo colectadas en expendios localizados en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

La presente investigación determinó la resistencia a los antibióticos por el método de Kirby Bauer en 42 cepas de *E. coli* aisladas a partir de las muestras de carne colectadas.

Se realizó un estudio descriptivo transversal que tenía como objetivo contribuir al conocimiento de la resistencia a los antibióticos en Guatemala, determinar a qué antibióticos presentan resistencia las cepas de *E. coli* aisladas, cuáles son los antibióticos a los cuales son sensibles y si existe multiresistencia.

La información generada podrá ser utilizada como referencia por las autoridades para elaborar planes para la prevención, control y vigilancia epidemiológica de la resistencia a los antimicrobianos.

2. Palabras clave

Antimicrobianos, salud pública, antibiograma, porcino, inocuidad

3. Abstract and keyword

Antimicrobial resistance is a problem of global importance that affects both human and animal health, affecting the response to antibiotic treatments. *Escherichia coli* (*E. coli*) has been used as an indicator of antibiotic resistance in previous studies. It is part of the intestinal flora of animals and human beings.

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

E. coli is capable of exchanging genetic material with other bacteria, which causes the development of resistance by the receptor bacteria. The present research was carried out evaluating the resistance of antibiotics by the Kirby Bauer method of *E. coli* strains isolated from 76 pork samples collected in stores located in the municipal markets of Guatemala City.

Antibiotics resistance was evaluated on 42 strains of *E. coli* isolated from the pork samples collected.

A cross-sectional descriptive study was carried to contribute to the knowledge of antibiotic resistance in Guatemala, to determine to which antibiotics the isolated strains of *E. coli* had resistance, to which they were sensitive and to determine multiresistance.

The information generated can be used as reference by the authorities to develop plans for the prevention, control and epidemiological surveillance of antimicrobial resistance.

Keywords: antimicrobians, public health, antibiograms, porcine, food safety

4. Introducción

La resistencia a los antibióticos es un problema que afecta tanto a los humanos como a los animales. Cualquier persona u animal se puede ver afectado por la resistencia, lo que tendrá por resultado una pérdida de la eficacia de los antibióticos frente a las infecciones bacterianas. La resistencia antimicrobiana es una consecuencia inevitable de la adaptación evolutiva de los microorganismos, el mal uso de antimicrobianos ha llevado a un incremento de la resistencia de microorganismos patógenos y comensales (Silbergeld, Graham & Price, 2008).

Es hoy una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo, según lo indica la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016). Ante tal preocupación, la OMS ha elaborado un Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, los antibióticos son uno de los antimicrobianos incluidos en el plan. Uno de los 5 objetivos del plan es reforzar los conocimientos a través de la vigilancia y la investigación (OMS, 2016).

Mediante investigaciones como la que se realizó con el presente estudio, se contribuye a la vigilancia y conocimiento de la resistencia a los antimicrobianos. Al ser *Escherichia coli* una bacteria indicadora de resistencia se puede hacer vigilancia de la misma con aislados de *E. coli*.

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Se ha demostrado que las bacterias pueden compartir genes de resistencia entre ellas. La abundancia de *E. coli* en el colon de humanos y de animales la involucra como el vehículo predominante en el transporte de genes de resistencia (O'Brien, 2002). Es por este motivo que se seleccionó a *E. coli* para evaluar la resistencia en el estudio.

La resistencia a los antibióticos se presenta cuando las bacterias se adaptan y crecen en presencia de antibióticos (OMS, 2016). Se ha demostrado en diferentes estudios el apareamiento de resistencia. En un estudio realizado por San Martín, B., Bravo, V. & Borie, C. (2005), utilizaron *E. coli* como indicador de resistencia a antibióticos; aislaron 50 cepas de ganado lechero (Grupo I) y 72 de ganado de carne (Grupo II); encontraron resistencia en 86% de las cepas de ganado lechero y en menos de 11% de las cepas de ganado de carne. Los mayores niveles de resistencia se presentaron frente a oxitetraciclina, enrofloxacino, ciprofloxacino y ceftiofur, en el Grupo I, y a sulfametoxazol/trimetoprim, en el Grupo II.

Sayha, Kaneene, Jhonson & Miller (2005) aislaron *E. coli* en muestras de heces de cerdos; 54.43% de 327 muestras tenían *E. coli* y encontraron mayor resistencia múltiple a los antibióticos en heces de cerdos comparadas con otras especies. Presentaba mayor resistencia a tetraciclina, sulfametoxazol, estreptomina y ampicilina. Estos datos coinciden con los reportados en un estudio conducido en Colombia donde se aisló *E. coli* O157:H7 en 4.6% de un total de 325 de heces porcinas y se reportó resistencia a tetraciclina y sulfametoxazol (Piedrahita, Marquez & Máttar, 2001).

En otro estudio realizado en Holanda con 325 muestras de heces de cerdo se aisló *E. coli* con resistencia a cloranfenicol, nitrofurantoina, oxitetraciclina, estreptomina y sulfametoxazol (Nijsten, London, Van den Bogard & Stobeeringh, 1996).

En Guatemala en un estudio realizado en carne molida de res con 100 muestras se encontró *E. coli* en el 100% de las muestras y se evaluó resistencia en 15 muestras; se obtuvo 23% de resistencia con ampicilina y 6% con sulfisoxazol y estreptomina (Sandoval, 2005). García, C. (2014) reporta el aislamiento de *E. coli* en centro hospitalarios con un mayor porcentaje de resistencia a ampicilina, ticarcilina y trimetoprim sulfametoxazol.

El estudio es de carácter descriptivo transversal, ha sido elaborado para determinar la resistencia a los antibióticos de cepas de *E. coli* aisladas en carne de cerdos, se identificará los antibióticos a los cuales presentan resistencia las cepas aisladas y los antibióticos a los cuales son susceptibles.

La información obtenida servirá para vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, para formulación de planes de control de infecciones bacterianas, mejor elección de antibióticos con fines terapéuticos y concientizar sobre la importancia de la prevención, control y vigilancia de la resistencia de los antibióticos.

5. Planteamiento del problema

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de importancia mundial. La aparición de la resistencia va ligada a la frecuencia de uso de los antibióticos y forma de uso: las bacterias desarrollan resistencia de manera natural. Sin embargo, con el uso frecuente de antibióticos se ha acelerado este proceso evolutivo.

Dado que muchos antibióticos pertenecen a la misma clase de medicamentos, la resistencia a un agente antibiótico concreto puede llevar a la resistencia a toda una clase conexas. Además, la resistencia que se manifiesta en un organismo o ubicación puede propagarse de forma rápida e impredecible; por ejemplo, mediante el intercambio de material genético entre diferentes bacterias y puede afectar a la antibioticoterapia de un amplio número de infecciones y enfermedades (OMS, 2016); por lo que representa un riesgo para la salud humana y animal al hacer que los tratamientos no sean efectivos. Es por este motivo que el estudio de la resistencia de *E. coli* es de suma importancia, ya que independientemente de su ubicación se sabe que es uno de lo principal vehículo para el transporte de genes de resistencia (O'Brien, 2002).

En diferentes estudios se ha encontrado resistencia a los antibióticos de cepas de *E. coli* (Nijsten, London, Van den Bogard & Stobeeringh, 1996; Piedrahita, Marquez & Máttar, 2001; Sandoval, 2005; Sayha, Kaneene, Jhonson & Miller, 2005) , sin embargo es necesario mantener actualizados los datos de resistencia como lo ha demostrado Sánchez, et al. (2008) quien determinó que entre el año 2002 y 2007 se presentó un aumento de la resistencia a fosfomicina, nitrofurantoína, tobramicina, cefuroxima, cefixima, amoxicilina-clavulánico, cotrimoxazol, ciprofloxacino, norfloxacino y ampilicina; en aislamientos urinarios de *E. coli*.

Se ha elegido realizar el presente estudio con carne debido a que se ha reportado la presencia de *E. coli* en carne de origen porcino, con un 55% de muestras positivas de un total de 75 muestras (Yandug, R., Ventuna, D., Ybañez, R. & Ybañez, 2016), debido a sí mismo a que al igual que los humanos, los cerdos son expuestos a antibióticos en casos de presentar infecciones de origen

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

bacteriano. El estudio se trabajará con carne de cerdo, sin embargo, es necesario realizar este tipo de estudios que contribuyen a la vigilancia en otras posibles fuentes de bacterias para los humanos y en diferentes etapas de las cadenas de producción debido a que puede haber contaminación de la carne en las diferentes etapas desde el faenado hasta su distribución en los mercados.

Tuvo como objetivo contribuir al conocimiento de la resistencia a los antimicrobianos. Así mismo, generó información relacionada a la sensibilidad y resistencia de cepas de *E. coli*, lo que ayuda a los profesionales de la salud involucrados en dar tratamientos, a hacer una mejor elección de los antibióticos. Aporta información científica que puede ser utilizada por las autoridades competentes para la toma de decisiones científicamente orientadas sobre el uso responsable de los antibióticos, para prevenir y controlar la resistencia.

6. Preguntas de investigación

¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* en los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala?

¿Existe resistencia a los antibióticos en cepas de *E. coli* aisladas en carne de cerdos?

¿A qué antibióticos presentan resistencia las cepas de *E. coli* aisladas?

¿A qué antibióticos son más sensibles las cepas de *E. coli* aisladas?

¿Las cepas de *E. coli* aisladas presentan multiresistencia a los antibióticos evaluados?

7. Delimitación en tiempo y espacio

Delimitación en tiempo: Tuvo una duración de 10 meses. Inició el 3 de febrero y terminó el 27 de noviembre del año 2020.

Delimitación espacial: El estudio se realizó tomando en cuenta los 345 expendios de carne (incluye marranerías y carnicerías que venden carne de cerdo) distribuidos en los 23 mercados municipales de la ciudad de Guatemala. En el Apéndice I, se puede observar un cuadro con los expendios de carne de cerdo, su distribución y muestras requeridas por mercado de acuerdo al cálculo realizado.

8. Marco teórico

8.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli es una bacteria saprófita que forma parte de la microbiota anaeróbica facultativa del intestino de animales y humanos, sin embargo, también se encuentran serotipos causantes de diarrea en animales, neonatos, adultos y sobre todo en humanos, de acuerdo a sus factores de virulencia, a los efectos que producen en la mucosa intestinal, y efectos epidemiológicos se clasifican en los siguientes patotipos: enteropatógenicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enterotoxigénicas (ETEC), enteroagregativas (EAEC), y verotoxigénicas (VTEC), y las VTEC causantes de colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico en el hombre se les llama enterohemorrágicas (EHEC). Causa frecuentemente diarreas en animales neonatos, adultos y en el hombre (Borie, 1997; Stanchi, N. et al., 2007).

8.2 Medios de cultivo selectivos

Se utiliza agar MacConkey para el aislamiento de enterobacterias a partir de materias fecales, alimentos, aguas residuales, etc. Las sales biliares y el violeta cristal presentes en el medio ejercen una inhibición significativa sobre las bacterias grampositivas. La lactosa y el indicador rojo neutro permiten comprobar la degradación de ese disacárido. Las colonias lactosa-negativas son incoloras. *E. coli* es un fermentador de lactosa (Stanchi, N. et al., 2007).

E. coli crece a 37°C durante 18-24 horas (Stanchi, N. et al., 2007).

Existen otros medios de cultivo selectivos como el Agar EMB (eosina-azul de metileno), así como medios para identificación entre los que se incluye: Caldo Rojo de metilo según Voges y Proskauer, Caldo triptonado, Agar citrato de Simmons (Stanchi, N. et al., 2007).

8.3 Cultivo bacteriano

Se le llama cultivo al proceso que consiste en propagar microorganismos brindándoles las condiciones ambientales adecuadas. Los factores que se deben regular durante el crecimiento son nutrientes, pH, temperatura, aeración, concentración de sales y potencia iónica del medio (Stanchi, N. et al., 2007).

8.4 Antibiograma

Es el estudio de sensibilidad de las bacterias a los antibióticos y quimioterapéuticos. Para su determinación en la investigación se utilizará la prueba de difusión en disco o método de Kirby Bauer (Stanchi, N. et al., 2007).

8.5 Consumo de carne de cerdo en Guatemala

El consumo de carne de cerdo tiene muchos beneficios por su calidad nutricional, el buen sabor que posee, con bajos niveles de grasa y colesterol que la hace confiable y segura para el consumidor. (APOGUA, 2018)

La carne de cerdo es muy apetecida entre otras cosas por el buen sabor, por la diversidad de cortes que se pueden obtener, así como el precio accesible por parte de los diferentes estratos económicos de Guatemala por lo que es posible ver el aumento de ventas de este tipo de carne en expendios en colonias, mercados municipales, supermercados pero también en ventas posiblemente clandestinas es decir que no tengan la licencia correspondiente para vender estos productos y otros de origen animal, por lo que muy probablemente sea carne proveniente de mataderos ilegales, por lo tanto no posee la calidad y la inocuidad necesaria para el consumo humano.

Este producto cárnico, así como otros son susceptibles a sufrir contaminación bacteriana a lo largo de la cadena de producción desde la primaria, pasando por la industrialización hasta la venta en expendios de diferente índole y finaliza con el manejo de la carne por el consumidor final.

Se ha acostumbrado que durante la producción primaria del cerdo se les administre dosis bajas de antibióticos como promotores del crecimiento favoreciendo el incremento de peso en menor tiempo.

8.6 Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia antibiótica es un fenómeno biológico natural debido a las mutaciones y a la gran capacidad de las bacterias de transferir horizontalmente su material genético, existiendo una clara correlación entre el uso de antibióticos y la resistencia bacteriana (Jawetz, E., 2010). De tal manera que existe la resistencia natural o intrínseca, que es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos. Esta condición se presenta en todas las bacterias de la misma especie, la cual son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permiten tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico (Jawetz, E., 2010).

Los mecanismos a través de los cuales los microorganismos adquieren resistencia contra los fármacos, son los siguientes: 1) Los microorganismos producen enzimas que destruyen al fármaco activo, como en el caso de las bacterias Gram negativas que son resistentes a los aminoglucósidos, esto es debido a poseer un plásmido, que producen enzimas que destruyen al fármaco; 2) Los microorganismos cambian su permeabilidad al fármaco; 3) Los microorganismos forman un sitio de acción estructural modificado para el fármaco; 4) formación de una vía metabólica modificada que desvía la reacción que es inhibida por el fármaco (Jawetz, E., 2010).

8.7 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica de biología molecular también conocida como PCR por sus siglas en inglés, fue inventada en 1983 por Kary Mullis (Rodríguez & Barrera, 2004). Es una prueba altamente sensible y específica, dependiendo del diseño de los iniciadores (primers o cebadores), ya que estos se unen a fragmentos específicos del ácido desoxirribonucleico (ADN) blanco (Rodríguez & Barrera, 2004).

Debe su nombre al uso de una enzima polimerasa, que se activa como un catalítico con el calor y es termoestable; que actúa al agregar dNTP's complementarios para crear a través de la enzima la cadena de ADN. La polimerasa más utilizada es la obtenida de una bacteria (*Thermus aquaticus*) (Rodríguez & Barrera, 2004).

8.8 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR)

La qPCR combina la amplificación y detección en un mismo paso, al correlacionar al producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad de fluorescencia (Bell & Randfort-Cartwright, 2002). Para ésta PCR se utiliza una sonda que contiene una secuencia complementaria al ADN blanco y un fluorocromo que se libera al completarse cada copia del fragmento de ADN y emite una señal de fluorescencia que a su vez es detectada por el termociclador (Aguilera, Ruíz Tachiquín, Rocha Munive, Pineda Olvera, & Chánez Cárdenas, 2014). El resultado de la PCR en tiempo real se ve mediante una gráfica en una computadora conectada al termociclador, donde se puede observar la amplificación exponencial del ADN que se ve reflejada en la formación de una curva (Bell & Randfort-Cartwright, 2002).

9 Estado del arte

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Rasheed, M. U., Thajuddin, N., Ahamed, P., Teklemariam, Z., & Jamil, K. (2014) aislaron 99 cepas de *E. coli* en la India a partir de diferentes tipos de muestras incluida carne de pollo y determinaron su sensibilidad a los antibióticos por el método de Kirby Bauer; evaluaron 19 antibióticos. De las 99 cepas de *E. coli* aisladas, 22 (16%) presentaban resistencia a uno o más antimicrobianos.

En otra una investigación realizada en la Ciudad de Cartagena se analizaron 60 muestras de carne de cerdo expandidas en supermercados, encontrando la presencia de *E. coli* en 36 muestras de ellas (60%) y el serotipo O157:H7 aislado en 17 muestras (28%) siendo no aptas para consumo humano (Franco, P., Ramírez, L., Orozco, M. & López, L., 2013).

En un estudio realizado por Borie, C. (1997) se analizaron 120 muestras de heces mediante hisopados rectales en la fase de evisceración de porcinos en dos plantas faenadoras en Santiago de Chile, encontrando una prevalencia de 68.3% (de 82 muestras) la presencia de EHEC en el contenido intestinal de los cerdos. La conclusión de este estudio se refiere a que este porcentaje obtenido significa la presencia de cerdos portadores asintomáticos de *E. coli* enterohemorrágica en sus defecaciones.

Así mismo, Piedrahita, D., Márquez, T. & Máttar, S. (2001) realizaron un estudio para establecer la presencia de *E. coli* O157:H7 en explotaciones porcinas tecnificadas, canales bovinas y carne molida, los resultados reflejaron la frecuencia de aparición del 4.6% en 325 muestras fecales porcinas, el 2% en 100 muestras de canales bovinas y el 10% de 20 muestras de carne molida. Así también los resultados revelaron una sensibilidad del 100% a la ciprofloxacina, gentamicina, ampicilina sulbactam, amikacina, cefaclor y ampicilina y presentaron una resistencia del 89.4% a la tetraciclina y 21% a trimetoprim sulfametoxazol.

Por la tanto bacterias como *E. coli* que se catalogan como parte de la microbiota normal de los animales, sirven también de reservorios de determinantes genéticos de resistencia que podrían ser transmitidas a bacterias patógenas y bacterias productoras de enfermedades zoonóticas (San Martín, B., Bravo, V. & Borie, C., 2005).

La investigación llevada a cabo por San Martín, B., Bravo, V. & Borie, C. (2005), consistió en evaluar la resistencia antimicrobiana en ganado bovino, utilizando *E. coli* como bacteria indicadora. En dicho estudio se tomaron 100 muestras cecales de vacas lactantes, logrando aislar

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

50 cepas de *E. coli*, a las cuales se les evaluó la sensibilidad antimicrobiana, presentando en orden de mayor a menor resistencia a Oxitetraciclina; Enrofloxacino, Ciprofloxacino; Ceftiofur y por último Sulfametoxazol/trimetoprim.

En otro estudio, se obtuvieron 100 muestras de intestino grueso de machos para carne en el momento de evisceración, aislando 72 cepas a las cuales también se les realizó la sensibilidad antimicrobiana obteniendo resistencia de un 10% para sulfametoxazol/trimetoprim, 4% para oxitetraciclina, y un 3% para ceftiofur. Un 1% de las cepas presentó resistencia a cefquinoma, cefoperazona, ciprofloxacino y gentamicina, mientras que frente a enrofloxacino el total de las cepas fue sensible San Martín, B., Bravo, V. & Borie, C., 2005). Los autores concluyen que todas las cepas aisladas resultaron sensibles a gentamicina, cefquinoma y cefoperazona, sugiriendo que estos antimicrobianos pueden ser tomados en cuenta prioritariamente para tratamientos de infecciones por bacterias gramnegativas (San Martín, B., Bravo, V. & Borie, C., 2005).

En Guatemala en un estudio realizado en carne molida de res con 100 muestras se encontró *E. coli* en el 100% de las muestras y se evaluó resistencia en 15 muestra; se obtuvo 23% de resistencia con ampicilina y 6% con sulfisoxazol y estreptomina (Sandoval, 2005). García, C. (2014) reporta el aislamiento de *E. coli* en centro hospitalarios con un mayor porcentaje de resistencia a ampicilina, tricarcilina y trimetoprim sulfametoxazol. En Guatemala no se han realizado estudios en carne de cerdo y resistencia a los antimicrobianos como el que se realizará con la esta investigación.

10 Objetivo general

Determinar la resistencia a antibióticos de cepas *Escherichia coli* aisladas a partir de carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

11 Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de *E. coli* en los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.
- Identificar los antibióticos a los que existe resistencia en cepas *E. coli* aisladas en carne de cerdos en Guatemala.

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

- Determinar a qué antibióticos son más sensibles las cepas de *E. coli* aisladas en carne de cerdos en Guatemala.
- Determinar la proporción de aislados de *E. coli* que presentan resistencia antimicrobiana.
- Determinar si existe multiresistencia en las cepas de *E. coli* aisladas.

12 Materiales y métodos

12.1 Enfoque y tipo de investigación

Enfoque de la investigación: La presente investigación tuvo un enfoque positivista (cuantitativo), se evaluó la presencia y la proporción de resistencia a los antibióticos de las cepas de *E. coli* obtenidas durante la investigación.

Tipo de la investigación: Fue un proyecto de investigación descriptiva transversal.

12.2 Método

Características del universo o población: Existen 345 expendios de carne registrados en los 23 mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

Criterios de inclusión: muestras de 4 onzas de carne de cerdo.

Criterios de exclusión: carne de otras especies animales.

Los expendios fueron seleccionados aleatoriamente (se hizo un muestreo aleatorio simple) con afijación proporcional por mercado. Tomando una muestra de cada uno de los expendios seleccionados.

La prevalencia de *E. coli* se calculó tomando en cuenta un valor de prevalencia esperada de 55% (Yandug, Ventuna, Ybañez & Ybañez, 2016), un nivel de confianza del 95%, el tamaño de la población (345 expendios), con una precisión del 10%.

El número de expendios a muestrear con una precisión de 10% es de 76 de los 345 existentes. En el cuadro del Apéndice, se indica el número correspondiente de expendios muestreados tomando en cuenta que se tomó una muestra por expendio y que se calculó con una precisión del 10%.

12.3 Técnicas e instrumentos

Para el aislamiento de las cepas de *E. coli* se procedió de la siguiente manera:

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Se colectó una muestra de 4 onzas de carne de cerdo por expendio. A continuación, se transportó inmediatamente en hielera (2-6°C) hacia el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia USAC, donde se realizó un pre enriquecimiento, para ese propósito se colocó 25 gr de la muestra en 225 ml de agua peptonada, en bolsas estériles Whirl-Pak (Nasco), se homogenizó por 3 minutos, luego se incubó durante 4 horas a 37° C. Posteriormente se inoculó 0.5 ml del contenido en placas de agar Chromocult® para coliformes (AOAC *Performance Tested*) y se incubó a 37° C. durante 24 horas.

Después de transcurrido dicho tiempo, se realizó el estudio macroscópico de las colonias y las colonias que presentaron características cromogénicas de color azul oscuro o violeta se identificaron presuntivamente como *E. coli*, (R.D. Gonzalez, 2003). Inmediatamente se procedió a realizar un pasaje por agotamiento en el medio de cultivo agar tripticasa soya y se incubó durante 24 horas a 37° C.. Transcurrido el tiempo, se tomaron de 3 a 5 colonias para realizar las pruebas bioquímicas, que constan de varios medios de cultivo, que permiten identificar las características metabólicas de la bacteria. Estas son 4 pruebas: Indol, rojo de metilo, Voges Proskauer y citrato las cuales se denominan IMViC, que para *E. coli* los resultados serán positivo a indol, positivo a rojo de metilo, negativo a voges proskauer y negativo a citrato y está conformada por los medios de cultivo en tubos: SIM, rojo de metilo, voges proskauer, simmons citrato.

Al confirmar la presencia de *Escherichia coli*, se expusieron las cepas a los antibióticos por el método de Kirby Bauer, se utilizó del agar Müller-Hinton para este propósito. Se preparó el inóculo en tubos con agua destilada estéril, ajustando una turbidez equivalente al estándar de 0.5 de MacFarland de las diferentes cepas para ser sembradas en las placas de agar Müller-Hinton y luego se colocaron en la superficie del medio los diferentes sensibilizadores impregnados con los antibióticos a ser evaluados, se incubaron por 24 horas a 37°C. Al día siguiente se hizo la lectura de inhibición de crecimiento bacteriano o determinar cepas resistentes a los diferentes antimicrobianos (Prescott, J., 2002). Se evaluaron los siguientes antimicrobianos: enrofloxacin, gentamicina, neomicina, tetraciclina, amikacina, ceftriaxona, ácido nalidíxico, kanamicina y sulfametoxazol+trimetoprim.

12.4 Operacionalización de las variables o unidades de análisis

Tabla 1

Operacionalización de las variables o unidades de análisis

Objetivos específicos	Variables o unidades de análisis que serán consideradas	Forma en que se midieron, clasificaron y cuantificaron
Determinar la prevalencia de <i>E. coli</i> en carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.	Prevalencia de <i>E. coli</i> en los expendios de carne de cerdo	Aislamiento bacteriano con medio de cultivo
Identificar los antibióticos a los que existe resistencia de <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdos en Guatemala.	Presencia de resistencia en aislados de <i>E. coli</i>	Resistencia antimicrobiana por el método de difusión en disco
Determinar a qué antibióticos son más sensibles las cepas de <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdos en Guatemala.	Presencia de sensibilidad en los aislados de <i>E. coli</i>	Sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco
Determinar la proporción de aislados de <i>E. coli</i> que presentan resistencia antimicrobiana.	Proporción de <i>E. coli</i> resistentes del total de aislados	Análisis de datos

<p>Determinar si existe multiresistencia en las cepas de <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdo.</p>	<p>Presencia de resistencia a más de un antibiótico</p>	<p>Análisis de datos</p>
---	---	--------------------------

12.5 Procesamiento y análisis de la información

Se realizó un análisis descriptivo. Se obtuvieron cuadros donde se indica la resistencia y sensibilidad de las cepas de *E. coli* aisladas. Se compararon los resultados con resultados obtenidos en otros estudios similares.

13 Vinculación, difusión y divulgación

Se realizó vinculación con la Unidad de Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Ver Apéndice

14 Productos, hallazgos, conocimientos o resultados

El principal resultado es la contribución realizada para el conocimiento y vigilancia de la resistencia a los antibióticos en Guatemala.

Se identificaron los antibióticos a los cuales son resistentes las cepas de *E. coli* aisladas, los antibióticos a los cuales son sensibles, la proporción de resistencia. Se identificó cepas de *E. coli* con resistencia a dos o más antibióticos evaluados. Este hallazgo confirma la presencia de resistencia a los antibióticos en las cepas evaluadas, lo que indica, hace un llamado de atención a las autoridades para que se tomen medidas para el control del desarrollo de resistencia antimicrobiana por parte de las cepas y la necesidad de contar en el país con programas de vigilancia de resistencia antimicrobiana.

Se obtuvo una prevalencia del 55% de *E. coli* en carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala, lo que constituye un hallazgo de importancia desde el punto de vista de salud pública y de inocuidad de los alimentos y alerta sobre la necesidad de implementar planes para garantizar la inocuidad de la carne en las diferentes etapas de la cadena de distribución.

15 Análisis y discusión de resultados

De las 76 muestras de carne de cerdo procesadas, 42 (55%) fueron identificadas con contaminación de *E. coli*. A los 42 aislados de *E. coli* se les realizó la prueba de sensibilidad

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

antimicrobiana mostrando que todas las cepas de *E. coli* (42/42) presentaron resistencia a por lo menos un antibiótico, mientras que el 83% (35/42) fueron resistentes a dos antibióticos o más.

Los aislados de *E. coli* presentaron mayor resistencia a tetraciclina 85% (36/42), neomicina 50% (21/42) y sulfametoxasole + trimetoprim 50%(21/42) y los aislados con mayor sensibilidad fueron ceftriaxona 91% (38/42), amikacina 83% (35/42), gentamicina 65% (27/42) y ácido nalidíxico 65% (27/42).

La prevalencia de *E. coli* en carne cruda de cerdo obtenida en el presente estudio (55%) es similar a la encontrada en Filipinas, Ghana y México (Yandug, Ventuna, Ybañez & Ybañez, 2016) (Dsani, et al., 2020) (Martínez-Vázquez, A., Rivera-Sánchez, Lira-Méndez, Reyes-López, & Bocanegra-García, 2018) que varían de 55% a 60%. Se observa que la contaminación por *E. coli* en la carne de cerdo de los mercados de diferentes partes del mundo es recurrente, principalmente en los mercados que venden la carne fresca expuesta al medio ambiente o poseen un deficiente control de calidad.

Las tetraciclinas son utilizadas ampliamente en medicina veterinaria, en la Unión Europea, las ventas de tetraciclinas representan el 37% de las ventas de antimicrobianos en veterinaria, como consecuencia de utilizar Tetraciclina indiscriminadamente, muchas de las bacterias como *E. coli*, desarrollan resistencia a la tetraciclina (Poirel, et al., 2018), tal es el caso del presente estudio donde el antibiótico con mayor resistencia fue Tetraciclina con 85% exponiendo la ineficacia que tiene la tetraciclina frente a las cepas de *E. coli* aisladas en la Ciudad de Guatemala.

Los aminoglucósidos son utilizados tanto en humanos como en animales para tratar infecciones complicadas. Los aminoglucósidos más utilizados son la neomicina, derivados de la estreptomicina, gentamicina y amikacina (Poirel, et al., 2018), este enunciado rectifica su veracidad en esta investigación ya que la neomicina es el segundo antimicrobiano con mayor resistencia (50%) junto a sulfametoxasole + trimetoprim (50%), que debido a su popularidad son utilizados en primera instancia frente a infecciones intestinales tanto en el cerdo como el humano, sin embargo, estos tendrán que ser reemplazados por otros antibióticos que posean una mayor sensibilidad a *E. coli*.

Reygaert (2018) señala que la utilización de concentraciones mínimas de antimicrobianos aumenta la habilidad de la bacteria a incrementar su rango de mutación adquiriendo mayor resistencia ante los agentes antimicrobianos, por lo que el mal uso de antimicrobianos propicia el

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

desarrollo de resistencia en las bacterias hasta el punto en que ningún antimicrobiano resulte efectivo ante una infección a bacterias resistentes.

Por otra parte, ceftriaxona fue el antimicrobiano que presentó mayor sensibilidad (91%), puede deberse a que este antimicrobiano es uno de los mejores para combatir las bacterias multirresistentes (OMS, 2016), sin embargo, presenta el 9% de resistencia, lo que significa que algunas cepas de *E. coli* están desarrollando resistencia a la ceftriaxona reduciendo el número de antibióticos que puedan ser efectivos contra las bacterias multirresistentes.

En Guatemala, hasta el momento, se desconocía la presencia de *E. coli* en la carne de cerdo en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala, tampoco se habían realizado estudios de resistencia antimicrobiana en carne de cerdo por lo que este estudio sirve de referencia para trabajos posteriores.

La carne es susceptible a su contaminación en cualquier punto de la cadena de venta, por lo que basados en los resultados es necesaria la elaboración de un plan para mejorar la inocuidad de la carne dentro de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala y el monitoreo de la resistencia antimicrobiana en otros productos para consumo humano.

16 Conclusiones

Tabla 2

Conclusión por objetivo

Objetivo	Conclusión
Determinar la prevalencia de <i>E. coli</i> en carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.	Se encontró una prevalencia de <i>E. coli</i> del 55% en muestras de los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.
Identificar los antibióticos a los que existe resistencia en aislados <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdos en	Las cepas de <i>E. coli</i> aisladas presentaron mayor resistencia a tetraciclina 85% (36/42), neomicina 50% (21/42) y sulfametoxasole + trimetoprim

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Guatemala.	50%(21/42).
Determinar a qué antibióticos son más sensibles las aislados de <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdos en Guatemala.	Las cepas de <i>E. coli</i> aisladas presentaron mayor sensibilidad a los siguientes antibióticos: ceftriaxona 91% (38/42), amikacina 83% (35/42), gentamicina 65% (27/42) y ácido nalidíxico 65% (27/42).
Determinar la proporción de aislados de <i>E. coli</i> que presentan resistencia antimicrobiana.	Todas las cepas de <i>E. coli</i> (42/42) presentaron resistencia a por lo menos un antibiótico.
Determinar si existe multiresistencia en las cepas de <i>E. coli</i> aisladas en carne de cerdo.	El 83% (35/42) de las cepas de <i>E. coli</i> fueron resistentes a dos antibióticos o más.

17 Impacto esperado

Se demostró que existe resistencia a los antibióticos en las cepas aisladas de *E. coli* a partir de carne de cerdo colectadas en el estudio y que existe contaminación por *E. coli*, ya que logró aislarse en el 55% de las muestras. Dicha contaminación puede darse en cualquier etapa desde el faenado de los animales hasta la distribución de la carne en los mercados municipales, que es donde se colectaron las muestras para la investigación.

Se demostró contaminación de la carne y resistencia antimicrobiana lo que debe ser tomado en cuenta por las autoridades ya que hace evidente la necesidad de contar con un programa de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en Guatemala y la necesidad de controlar la inocuidad de la carne en las diferentes etapas desde el faenado hasta la distribución en los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala.

Evidencia la necesidad de capacitar a las personas que manipulan alimentos en inocuidad y medidas para prevenir la contaminación de la carne. Así mismo, es una alerta para hacer uso responsable de los antibióticos para el tratamiento de infecciones bacterianas tanto en medicina

humana como en medicina veterinaria y demuestra la importancia del uso rutinario de pruebas de sensibilidad a los antibióticos para su elección por parte de los profesionales de la salud.

18 Referencias

- Alarcón, M., Escobar, G., Palma, M., Chang, A., Guaminga, J. y Tutillo, D. (2020) *Escherichia coli* o157:h7 en carne molida comercializada en los mercados de Guayaquil. *Journal of America health*, 3(2), 159-168. Doi: 10.37958/jah.v3i2.45
- Canet-Elgueta, M. J., Davila, A., Hernández, R. y Lepe-López, M. (2018) Detección de residuos de quinolonas en carne bovina de venta en los mercados municipales de la Ciudad de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 5(2), 189-195. Recuperado de: <https://digi.usac.edu.gt/ojsrevistas/index.php/cytes/article/view/472/490>
- Clinical and Laboratory Standars Institute [CLSI] (2020) *M100 Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Recuperado de: <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED30:2020&sbssok=CLSI%20M100%20ED30:2020%20TABLE%202>
- Dsani, E., Afari, E., Danso-Appiah, A., Kenu, E., Kaburi, B. & Egyir, B. (2020) Antimicrobial resistance and 22esistanc detection of extended spectrum β - lactamase producing *Escherichia coli* isolates from raw meat in Greater Accra region, Ghana. *BMC Microbiology*, 20(1), 253-261 doi: 10.1186/s12866-020-01935-z
- Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A., y Vargas-Remolina, L. V. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista chilena de Infectología*, 33(4), 438-450. Doi: 10.4067/S0716-10182016000400009.
- Martínez-Vazquez, A., Rivera-Sánchez, G., Lira-Méndez, K., Reyes-López, M. & Bocanegra-García, V. (2018) Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from retail meat in Tamaulipas, Mexico. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 266-272. Doi: 10.1016/j.jgar.2018.02.016

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

- Monterroso, C. M., Salvatierra, R. G., Sedano, S. A. y Calle, E. (2019) Detección fenotípica de mecanismos de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aisladas de infecciones entéricas de porcinos provenientes de granjas de producción tecnificada. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 455-464. Doi: 10.15381/rivep.v30i1.15670
- Organización Mundial de la Salud (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Ginebra, Suiza.
- Piedrahita, D., Marquez, T. y Máttar, S. (2001). Detección de *Escherichia coli* 0157: H7 en poblaciones porcinas, canal bovina y productos cárnicos en el departamento de Córdoba. *Revista MVZ Córdoba*, 6(2), 119-126.
- Pissetti, C., Werlang, G., Kich, J. & Cardoso, M. (2017) Genotyping and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from pig carcasses. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37(11), 1253-1260. Doi: 10.1590/s0100-736x2017001100010
- Poirel, L., Madec, J., Lupo, A., Kieffer, N., Nordmann, P. & Schwarz, S. (2018) Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial resistance in Bacteria from livestock and Companion Animals*, 289-316. Doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017
- Pormohammad, A., Nasiri M & Azimiti, T. (2019) Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: A systematic review and meta-analysis. *Infection and drug resistance*, 12, 1181-1197. Doi: 10.2147/IDR.S201324 edincr@gmail.com
- Reygaert, W. (2018) An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482-501. Doi: 10.3934/microbiol.2018.3.482
- Ruiz-Roldan, L., Martínez-Puchol, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D.,... pons, M. (2018) Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(3), 425-432. Doi: 10.17843/rpmesp.2018.353.3737

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Silbergeld, E., Graham, J. & Price, L. (2008) Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annual Review of Public Health*. 29, 151-169. Doi: 0.1146/annurev.publhealth.29.020907.090904

Torres, A., Amaral, M., Bentancor, L., Galli, L., Goldstein, J., Krüger, A. & Rojas-Lopez, M. (2018) Recent advances in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* research in Latin America. *Microorganisms*, 6(4), 100. Doi: 10.3390/microorganisms6040100

Yandug, R., Ventuna, D., Ybañez, R. & Ybañez, A. (2016) Microbial plate count and detection of *Escherichia coli* in pork meat samples from stalls in a public wet market in Cebu, Philippines. *International Research Journal of Interdisciplinary & Multidisciplinary Studies*, 2(2), 65-72. ISSN: 2394-7969

Zhang, A., et al. (2016) Antibiotic and Disinfectant Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Retail Meats in Sichuan, China. *Microbial drug resistance*, 22(1), 80-87. Doi: 10.1089/mdr.2015.0061

19 Apéndice
Tabla 3

Distribución de la muestra en los expendios de carne de cerdo de los mercados municipales

No.	Nombre del Mercado	Ubicación del mercado (zona)	Expendios de carne de cerdo	Expendios muestreados (una muestra por expendio)
1	Central	1	15	4
2	Sur Dos	1	47	11
3	La presidenta	1	12	3
4	Colon	1	13	3
5	De Flores	3	0	0
6	Cervantes	3	5	1
7	El Gallito	3	11	2

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

8	La Terminal	4	54	12
9	La Palmita	5	22	5
10	La Asunción	5	7	1
11	San Martín de Porres	6	21	5
12	La Parroquia	6	21	5
13	Candelaria	6	4	1
14	San José Mercantil	7	10	2
15	La Bethania	7	0	0
16	Villa Guadalupe	10	9	2
17	El Guarda	11	25	5
18	Roosevelt	11	13	3
19	La Reformita	12	11	2
20	Santa Fe	13	5	1
21	La Florida	19	31	7
22	Justo Rufino Barrios	21	6	1
TOTAL			342	76

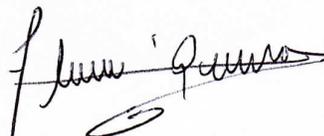
Listado de los integrantes del equipo de investigación

Listado de los integrantes del equipo de investigación

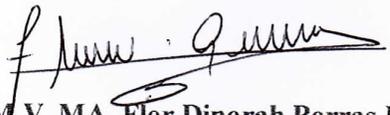
Contratados por contraparte y colaboradores

Nombre	Firma
Jacqueline Escobar Muñoz	

Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago		Firma
			SI	NO	
Flor Dinorah Porras López	Titular III	20150886	X		

Guatemala, 26 de enero de 2021.


M.V. MA. Flor Dinorah Porras López
Proyecto de Investigación


Dra. Hilda Elena Valencia de Abril
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud
DIGI/USAC


Ing. Agr. MARN Rufino Salazar
Coordinador General de Programas
DIGI/USAC

Guatemala, 17 de febrero de 2021.

Señor Director
Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señor Director:

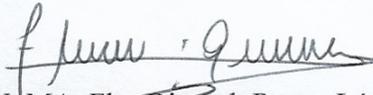
Adjunto a la presente el informe final **“Evaluación de la resistencia a los antimicrobianos de cepas de Escherichia coli aisladas en la ciudad de Guatemala”** con código: DES02-2020, coordinado por la M.V. MA. Flor Dinorah Porras López y avalado por el Instituto de Investigaciones en Ciencia Animal y Ecosalud de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado con base en la guía de presentación de la Dirección General de Investigación, el cual fue revisado su contenido en función del protocolo aprobado, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente.

Así mismo, la coordinadora del proyecto, se compromete a dar seguimiento y cumplir con el proceso de revisión y edición establecido por Digi del **informe final y del manuscrito científico**.

Sin otro particular, suscribo atentamente.

“Id y enseñad a todos”



M.V. MA. Flor Dinorah Porras López
Coordinadora del proyecto de investigación



PhD. Dennis Guerra Centeno
Director del Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia