



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales del cantón Saraguro.

Trabajo de Integración Curricular previo a la
obtención del título de Médico Veterinario

AUTOR:

Adrian Medardo Zhunaula Morocho

DIRECTORA:

Mvz. Jenny Soraya Carrillo Toro, MSc.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

Loja, 24 de febrero de 2023

Mvz. Jenny Soraya Carrillo Toro, MSc.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: “**Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales del cantón Saraguro**” de autoría del estudiante **Adrian Medardo Zhunaula Morocho**, con cédula de identidad Nro. **1900949395**, previa a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, apruebo y autorizo la presentación para la respectiva sustentación y defensa.



Mvz. Jenny Soraya Carrillo Toro, MSc.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Adrian Medardo Zhunaula Morocho**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



Firma:

Cédula de Identidad: 1900949395

Fecha: 25 de septiembre de 2023

Correo electrónico: adrian.zhunaula@unl.edu.ec

Teléfono o Celular: 0982513717

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.

Yo, **Adrian Medardo Zhunaula Morocho**, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: “**Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales del cantón Saraguro**”, como requisito para optar el título de **Médico Veterinario** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veinticinco días del mes de septiembre del dos mil veintitrés.



Firma:

Autor: Adrian Medardo Zhunaula Morocho

Cédula: 1900949395

Dirección: Saraguro, Loja.

Correo electrónico: adrian.zhunaula@unl.edu.ec

Teléfono: 0982513717

DATOS COPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Integración Curricular: MVZ. Jenny Soraya Carrillo Toro, MS

Dedicatoria

Dedico este logro a mi Dios por bendecirme, darme la Sabiduría e inteligencia, a mis padres Rosa Delfina Morocho Medina y Pedro Francisco Zhunaula Medina por ser mis pilares fundamentales para llegar hasta donde he llegado, porque hicieron realidad este sueño anhelado.

A mis hermanos Jeison, Janina, Ismael, Denis y Alison Zhunaula quienes de una u otra forma me apoyaron y estuvieron para mí.

Finalmente quiero dedicar este trabajo de Integración Curricular a toda mi familia, por apoyarme con trabajo y moralmente cuando más los necesitaba.

Adrian Medardo Zhunaula Morocho.

Agradecimiento

Dejo constancia de mi sincero agradecimiento a Dios, quien me dio la salud y Sabiduría. Mi más profundo agradecimiento a mis padres quienes me impulsaron a seguir con este sueño.

Quiero expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria de Recursos Naturales Renovables y especialmente a la carrera de Medicina Veterinaria con toda su planta docente por brindarme sus conocimientos y apoyo en la formación profesional.

Agradezco también a la Mvz. Jenny Soraya Carrillo Toro, MSc. por su asesoría en el trabajo de Integración Curricular; a la Bqf. Yesica Valdivieso y al Dr. Roberto Bustillos por su invaluable aporte y predisposición para la realización de este trabajo investigativo.

Adrian Medardo Zhunaula Morocho

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de Tablas.....	ix
Índice de Figuras	ix
Índice de Anexos.....	x
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1 Abstract	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1. Enfermedades Transmitidas por Alimentos	6
4.2. Escherichia coli	6
4.2.1. <i>Características de E. coli.</i>	7
4.2.2. <i>Pruebas Bioquímicas.</i>	7
4.3. Salmonella spp.	8
4.3.1. <i>Características de Salmonella spp.</i>	8
4.3.2. <i>Pruebas Bioquímicas.</i>	8
4.4. Inocuidad Alimentaria	8
4.4.1. <i>INEN. (Instituto Ecuatoriano de Normalización)</i>	9
4.5. Resistencia Antimicrobiana	10
4.1.1. <i>Tipos de Resistencia</i>	10
4.1.2. <i>Mecanismos de resistencia.</i>	11

5.	Metodología.....	12
	5.1. Área de estudio.	12
	5.2. Procedimiento	12
	5.2.1. <i>Enfoque metodológico.</i>	12
	5.2.2. <i>Diseño de la investigación</i>	13
	5.2.3. <i>Tamaño de la muestra y tipo de muestreo.....</i>	13
	5.2.4. <i>Técnicas.....</i>	13
	5.2.5. <i>Variables de estudio</i>	15
	5.2.6. <i>Procesamiento y análisis de la información</i>	15
	5.2.7. <i>Consideraciones éticas.....</i>	15
5.	Resultados	16
	5.1. Análisis confirmatorio de <i>E. coli</i>.	16
	5.2. Resistencia antimicrobiana de <i>E. coli</i>.	18
	5.3. Análisis confirmatorio de <i>Salmonella</i> spp.	18
	5.4. Resistencia antimicrobiana de <i>Salmonella</i> spp.	20
6.	Discusión	21
	6.1. Análisis microbiológico	21
	6.2. Resistencia antimicrobiana.....	24
7.	Conclusiones	27
8.	Recomendaciones	28
9.	Bibliografía	29
10.	Anexos.	38

Índice de Tablas

Tabla 1. Patogenia de <i>E. coli</i> patógenas	6
Tabla 2. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.	9
Tabla 3. Resultados de diferentes pruebas bioquímicas para <i>E. coli</i>	16
Tabla 4. Determinación de <i>E. coli</i> en quesillos artesanales	17
Tabla 5. Determinación de otras bacterias de EMB y MacConkey.	17
Tabla 6. Antibiograma frente a <i>E. coli</i>	18
Tabla 7. Resultados de diferentes pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> spp.	19
Tabla 8. Determinación de <i>Salmonella</i> spp. en quesillos artesanales	19
Tabla 9. Determinación de otras bacterias de XLD y SS	19
Tabla 10. Antibiograma frente a <i>Salmonella</i> spp.	20

Índice de Figuras

Figura 1. Ubicación geográfica del cantón Saraguro	12
---	----

Índice de Anexos

Anexo 1. Flujograma de aislamiento de <i>E. coli</i>	38
Anexo 2. Flujograma del aislamiento de <i>Salmonella</i> spp.	39
Anexo 3. Crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i>	40
Anexo 4. Pruebas bioquímicas para <i>E. coli</i>	40
Anexo 5. Tinción Gram para <i>E. coli</i>	42
Anexo 6. Medidas de los halos de inhibición para <i>E. coli</i>	42
Anexo 7. Medidas de los halos de inhibición de otras enterobacterias.....	43
Anexo 8. Crecimiento bacteriano de <i>Salmonella</i> spp.	43
Anexo 9. Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> spp.	44
Anexo 10. Tinción Gram para <i>Salmonella</i> spp.	44
Anexo 11. Medidas de los halos de inhibición para <i>Salmonella</i> spp.....	45
Anexo 12. Halos de inhibición para <i>Shigella</i> spp.	45
Anexo 13. Certificación de Inglés.....	47

1. Título

Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.
aisladas en quesillos artesanales del cantón Saraguro.

2. Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) ponen en riesgo a la salud del consumidor, así como también el uso inadecuado de antibióticos genera resistencia antimicrobiana lo que constituye en la actualidad uno de las 10 principales amenazas de la salud pública. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales comercializados en la feria libre del cantón Saraguro. El estudio fue observacional de corte transversal en el que se recolectaron 25 muestras de quesillo para realizar el análisis microbiológico mediante el uso de medios de cultivo diferenciales y la confirmación mediante pruebas bioquímicas de las mismas. Posteriormente se realizó la evaluación de resistencia antimicrobiana por el método de difusión de disco. Se logró la identificación del 12 % de *E. coli* y *Salmonella* spp. Se determinó la resistencia antimicrobiana de amoxicilina/ácido clavulánico en un 100 % para *E. coli* y para *Salmonella* spp., además una resistencia del 33,33 % a norfloxacin y enrofloxacin a *Salmonella* spp. Se identificó otras bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Shigella* spp., *Proteus* spp. y *Proteus vulgaris*. Por lo cual se concluye, que los quesillos presentan contaminación bacteriana lo cual se puede asociar a la materia prima contaminada durante el ordeño, producción o el expendio.

Palabras clave: ETAs, antibióticos, resistencia antimicrobiana, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.

2.1 Abstract

Foodborne diseases (FBDs) put consumer health at risk, and the inadequate use of antibiotics generates antimicrobial resistance, which is currently one of the ten main threats to public health. This research aimed to evaluate the antimicrobial activity of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., isolated from artisanal cheeses sold at the free fair in Saraguro canton. The study was an observational cross-sectional study in which we collected 25 quesillo samples for microbiological analysis using differential culture media and confirmation by biochemical tests. Subsequently, we evaluated antimicrobial resistance by the disc diffusion method. We identified 12 % of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp.; we determined 100 % antimicrobial resistance to amoxicillin/clavulanic acid for *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In addition, we found 33.33 % resistance of norfloxacin and enrofloxacin to *Salmonella* spp. We also identified other bacteria such as *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp, *Morganella* spp, *Enterobacter cloacae*, *Shigella* spp, *Proteus* spp. and *Proteus vulgaris*. Therefore, we concluded that the cheeses present bacterial contamination, which can also be related to the contaminated raw material during milking, production, or sale.

Keywords: ETAs, antibiotics, antimicrobial resistance, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.

3. Introducción

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad y un significativo impedimento al desarrollo socioeconómico en todo el mundo (OMS, 2020; Hall *et al.*, 2006), son generalmente de carácter infeccioso causado por bacterias, virus, parásitos o tóxico con sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados (Espinoza *et al.*, 2020). Según la Roberts & Sockett (1994) y OMS (2017), constituyen uno de los problemas más extendidos en el mundo actual, así como en la salud pública causan problemas por su incidencia, severidad y costos asociados. Aproximadamente, 600 millones de habitantes, es decir 1 de cada 10 se enferman por ingerir alimentos contaminados y 420.000 mueren a causa de los alimentos insalubres en los países de ingresos bajos y medianos (OMS, 2020). En el Ecuador, la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública reporta en el anuario de vigilancia epidemiológica de 1994-2017 un total de 612223 casos de enfermedades y de la misma manera, en el año 2021 alcanzaron 19487 casos de enfermedades transmitidas por agua y alimentos (MSP, 2018; 2021).

La leche y sus derivados son fuentes de alimentación característico de gran parte de las zonas rurales y semirurales de países de Sudamérica (Castillo *et al.* 2008), son muy beneficiosos para la nutrición, pero puede convertir en un vehículo para la transmisión de microorganismos patógenos, toxinas, pesticidas, antibióticos, metales pesados, esteroides, detergentes, desinfectantes, y partículas extrañas, entre otros residuos químicos y físicos (Patarroyo & Ochoa, 2020). (FAO, 2023).

Las bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter* y *E. coli* son microorganismos más patógenos que están asociados al consumo de productos de origen animal, dentro de ello, está la *E. coli* enterohemorrágica que se asocia principalmente con el consumo de leche no pasteurizada (OMS, 2020). Uno de los brotes más importantes fue en Canadá infectando a 55 personas, falleciendo 19 de ellas, tras de consumir leche fresca recién ordeñada (CDC, 2017). De la misma manera, según Miszczycha *et al.* (2013) en EE.UU. estiman de por lo menos 20 000 casos de enfermedad y 250 muertes por año al consumir quesos frescos con presencia de *E. coli*. También reportes de la CDC (2017) en EE.UU. 32 personas fueron infectadas por *E. coli* O157:H7, 12 de ellas hospitalizadas, 9 desarrollaron el síndrome urémico hemolítico debido al consumo de mantequilla.

La *Salmonella* se ha reportado una incidencia de 1,3 billones de casos en humanos por año, causando, además, tres millones de muertes a su paso, (Borsoi *et al.*, 2012). Es una de las cuatro principales causas de diarrea y se contagia por el consumo de alimentos insalubres (OMS, 2017). En Ecuador los datos epidemiológicos de *Salmonella* por contaminación de animales, alimentos y humanos se han notificado 310 casos de Salmonelosis en las 24 provincias Según el MSP (2023).

Según OMS (2020), la resistencia a los antimicrobianos surge cuando las bacterias, los virus, los hongos y los parásitos cambian a lo largo del tiempo y dejan de responder a los medicamentos. Es una de las 10 principales amenazas de salud pública a las que se enfrenta la humanidad, por la rápida propagación mundial de bacterias multirresistentes y panresistentes que provocan infecciones que los antibióticos son cada vez más ineficaces para tratar (OMS, 2021). El consumo de leche y sus derivados contaminados con presencia de bacterias antibióticas resistentes ha sido ampliamente reportado. En Estados Unidos se realizó un estudio en donde se comprobó que el porcentaje de hospitalización se presenta en un 8 % cuando las bacterias de la *Salmonella* spp. no son resistentes a los antibióticos a diferencia de los casos en donde las cepas son multirresistentes en donde aumentaba el porcentaje a un 22 %, (Varma *et al.*, 2006).

Por lo antes expuesto los resultados del presente trabajo pueden ser de gran utilidad para implementar normas y controles en la comercialización de quesillos, por los datos que repercutirán para el uso y limitación de ciertos antibióticos en la ganadería, así como también, puedan implementar normas y controles para el proceso de comercialización del quesillo que se realiza en la actualidad.

Por lo antes mencionado, en la presente investigación se ha propuesto los siguientes objetivos:

- Evaluar la actividad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales comercializados en la feria libre del cantón Saraguro.
- Aislar e identificar *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en quesillos artesanales comercializados en la feria libre del cantón Saraguro.
- Evaluar la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas en quesillos artesanales comercializados en la feria libre del cantón Saraguro.

4. Marco Teórico

4.1. Enfermedades Transmitidas por Alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), es un indicio originado al momento de ingerir alimentos y/o agua contaminados en suficientes cantidades que afectan la salud del consumidor (Gonzales & Rojas, 2005). Los alimentos de origen animal están expuestos a contaminación por agentes físicos, biológicos y químicos, peligros que pueden transmitirse al consumidor; además de que por sí mismos son amenazas para la salud y bienestar de los animales y personal que labora en las unidades de producción (Lara, 2008).

Estas enfermedades presentan diferentes síntomas gastrointestinales, dolor abdominal, náuseas, vómito, diarrea y fiebre; llegando a producir complicaciones graves, como sepsis, meningitis, abortos, síndrome de Reiter, síndrome de Guillan Barré o la muerte (Linscott, 2011; Steniner, 2013). Según la Legetic *et al.* (2017), las patologías no solo afectan la salud humana, sino que tienen un impacto socioeconómico, debido a que provoca una reducción en el ámbito productivo y comercio e imponen una carga sustancial en los sistemas de salud al generar gastos en hospitalizaciones y medicamentos.

4.2. *Escherichia coli*

E. coli se encuentra presente en una gran variedad de ecosistemas y parte importante del tracto intestinal saludable de humanos y animales (Uddin *et al.*, 2022). *E. coli* es el patógeno más común que conduce a la cistitis no complicada y también provoca otras enfermedades extraintestinales, como neumonía, bacteriemia e infecciones abdominales como la peritonitis bacteriana espontánea (Mueller & Tainter, 2022). Con base en su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican en seis grupos:

Tabla 1. Patogenia de E. coli patógenas

Microorganismo	Lugar de acción	Síntomas clínicos
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	Intestino delgado	Diarrea del viajero, diarrea infantil, diarrea acuosa, dolor abdominal y vómito.
<i>E. coli</i> enteropatógeno (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil, fiebre, náuseas, vómito y heces no sanguinolentas.

<i>E. coli</i> enteroinvasivo (ECEI)	Intestino grueso	Fiebre, espasmos, diarrea acuosa, heces sanguinolentas.
<i>E. coli</i> enterohemorrágico (ECEH)	Intestino grueso	Colitis hemorrágica, puede progresar síndrome hemolítico urémico (SHU).
<i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	Intestino delgado y grueso	Diarrea líquida, verde con moco, sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días.
<i>E. coli</i> adherencia difusa (DAEC)	Intestino delgado	Diarrea acuosa sin sangre

Fuente. Nataro & Kaper, (1998).

4.2.1. Características de *E. coli*.

E. coli es una bacteria Gram negativo de 0.3 a 1 mm x 2.0-6.0 mm variando desde formas cocoides (bipolares, hasta largos filamentos), son móviles por flagelos peritricos pero algunos carecen y no produce esporos (Nataro & Kaper,1998). Es aerobio y anaerobio facultativo en presencia de carbohidratos fermentables que crece a una temperatura óptima de 37,5 °C, en las placas se observa colonias blancas o blanco amarillento hasta formar pardo-doradas mientras envejece el cultivo (Merchant & Packer, 1958).

4.2.2. Pruebas Bioquímicas.

E. coli tiene la capacidad inherente de fermentar lactosa y producir indol (Mueller & Tainter, 2022), no utilización de citrato como fuente de carbono y no producción de acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas (Merchant & Packer, 1958).

Produce ácido y gas a partir de lactosa, fructosa, galactosa, maltosa, arabinosa, xilosa, ramnosa, y manitol. Es rojo-metilo positivo y Voges-Proskauer negativo, produce catalasa, no licua la gelatina, forma indol, reduce los nitratos y no produce H₂S (Merchant & Packer, 1958).

La *E. coli* produce endotoxinas que causan daño tisular y en la capacidad de colonizar diferentes tejidos mediante factores de virulencia que le permiten evadir las defensas del hospedador (Procop *et al.*, 2017).

4.3. *Salmonella* spp.

La *Salmonella* spp. está distribuido a nivel mundial, es un agente zoonótico importante y ha sido aislada a partir de una gran variedad de animales homeotermos y poiquilotermos (Arias & Buelga, 2005). El género *Salmonella* consta de sólo dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, esta última tiene seis subespecies: *enterica*, *salama*, *arizona*, *diarizona*, *houtena* e *indica*. Los serotipos de la subespecie *entericae* causan 99% de las salmonelosis en humanos y animales superiores (Uzzau *et al.*, 2000).

4.3.1. *Características de Salmonella* spp.

El género *Salmonella* spp. forma parte de las Proteobacterias, pertenece al orden de Enterobacteriales y a la familia *Enterobacteriaceae* (Bell & Kyriakides, 2008). Son bacilos no esporulados de longitud pequeña, Gram negativos, de 0,7-1,5 x 2-5 µm, anaerobios facultativos caracterizada por ser oxidasa negativa, no formadores de esporas, generalmente móviles por presencia de flagelos peritricos (excepto *S. gallinarum*) (Guthrie, 2018).

Producen ácido y gas de la glucosa, maltosa, manitol y sorbitol. No forma indol, ni coagulan la leche, ni licuan la gelatina (Merchant & Packer, 1958).

4.3.2. *Pruebas Bioquímicas.*

La *Salmonella* spp. fermentan glucosa, maltosa y manitol, pero no fermentan lactosa ni sacarosa, son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos, son viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración y congelación, pueden desarrollarse en temperaturas que van de 7 °C y los 48 °C y mueren por calentamiento (mayor a los 70 °C) (Guthrie, 2018).

4.4. *Inocuidad Alimentaria*

La inocuidad de los alimentos está implícita de hacer prevalecer el aspecto preventivo de las medidas a tomar, de manera que la inocuidad de los alimentos debe verse como parte esencial de los cuidados preventivos de la salud pública (OMS, 2018).

Es el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos para asegurar que, una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud (OMS, 2018). El alimento es un medio para sostener y disfrutar la vida, pero también, es un vehículo para transmitir enfermedades causando la mortalidad y la reducción de la productividad económica (Martínez, 2016).

La calidad de los alimentos es uno de los aspectos más importantes para la determinación de su inocuidad con sus respectivas características organolépticas (color, olor, sabor, textura) deben de garantizar que dichos productos se encuentren libres de contaminantes físicos, químicos y microbiológicos (NCERT, 2009).

Los gobiernos deben elevar la inocuidad de los alimentos al rango de prioridad de salud pública, puesto que desempeñan una función capital en la formulación de políticas y marcos normativos, y en el establecimiento y aplicación de sistemas eficaces en materia de inocuidad de los alimentos (OMS, 2020).

4.4.1. INEN. (*Instituto Ecuatoriano de Normalización*)

Los requisitos para la elaboración del queso fresco están establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1528, la cual indica que la leche utilizada para su fabricación deberá cumplir con los requisitos de la norma NTE INEN 10, la misma que menciona que la leche debe pasar por un proceso de pasteurización, es decir que sea sometida a un proceso térmico el cual garantice la destrucción total de los microorganismos patógenos y microorganismos banales (saprofitos) sin alterar las características fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas de la misma (INEN, 2012^a).

Tabla 2. *Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.*

Requisito	n	m	M		Método de ensayo
Enterobacteriaceas, UFC/g	5	2×10^2	10^3	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10^2	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15

Nota: Adaptado de Normativa del Instituto Ecuatoriano de Normalización 1338 (p.6), por INEN, 2012.

Donde:

n = número de muestras a examinar

m = índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M = índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

c = número de muestras permisibles con resultados entre m y M (INEN, 2012).

4.5. Resistencia Antimicrobiana

Según la OMS, (2018) la resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de fármacos que sufren cambios haciendo que sea ineficaz contra las bacterias. Es una grave amenaza para la salud pública, ya que día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro de tratar enfermedades infecciosas, estos pueden afectar a personas de cualquier edad y en cualquier región del mundo (OMS, 2014; 2018).

Durante los últimos años, los reportes de infecciones ocasionadas por *E. coli* resistente a varias familias de antibióticos se han incrementado considerablemente (Poirel *et al.*, 2018). La subdosificación de antibióticos en seres humanos y el uso de éstos como profilácticos y promotores del crecimiento en animales de abasto, han sido las principales causas para la emergencia de mecanismos de resistencia que permiten la supervivencia bacteriana frente a los regímenes terapéuticos, así como la evolución de cepas multirresistentes (Poirel *et al.*, 2018; Lepe & Martínez, 2022).

4.1.1. Tipos de Resistencia

La resistencia de las bacterias a los antibióticos puede ser natural o adquirida. La resistencia natural (intrínseca) se caracteriza porque todas las cepas pertenecientes a la misma especie son resistentes a un antibiótico transmitiendo de forma vertical de generación en generación (Kantor *et al.*, 2021). Ésta puede producirse por 6 particularidades de la pared bacteriana que impiden acceder el antibiótico a su blanco, es el caso de los microorganismos gramnegativos todos son resistentes a la vancomicina, y esta situación no es variable (Vignoli & Seija, 2008).

La resistencia adquirida se produce a través de mutaciones o por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias (Calderón & Aguilar, 2016). Se transmite por la transferencia de genes de manera horizontal, a través de plásmidos, transposones integrones

y bacteriófagos; estos, no solo permiten la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas (Loera *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2012).

4.1.2. Mecanismos de resistencia.

Los mecanismos principales de resistencia que desarrollan las bacterias frente a los antibióticos son:

- Cambios en la permeabilidad de la membrana externa: consiste en la disminución de la expresión de porinas, lo cual evita que el antibiótico pueda ingresar (Calderón & Aguilar, 2016). Este mecanismo es importante en los Gram negativos, ya que los betalactámicos ingresan a través de las porinas (Martínez, 2016; Vignoli & Seija, 2008).
- Bombas de flujo: son estructuras proteicas capaces de expulsar al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antimicrobiana (Marchetti *et al.*, 2011; Pérez & Robles, 2013). Para ello, la bacteria utiliza la hidrólisis de ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato de energía (Moreno, 2013).
- Modificación del sitio blanco de acción: las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria, esto produce pérdida de la afinidad y le impide ejercer su acción (Moreno, 2013). Este mecanismo es utilizado en las bacterias Gram positivas (Balagurusamy, 2016).
- Hidrólisis enzimática: Es el mecanismo más común de resistencia adquirida y está determinado por la producción de enzimas que hidrolizan al antimicrobiano (Calderón & Aguilar, 2016).

5. Metodología

5.1. Área de estudio.

La presente investigación se realizó en el cantón Saraguro, el cual se encuentra ubicado a 64 km al noroccidente de la ciudad de Loja, presenta una altitud que va desde los 1000 a 3800 m s.n.m., con una extensión de 1080.70 Km² (Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Saraguro [GAD-Saraguro], 2015). En lo que corresponde a la temperatura oscila entre los 12 y 26 °C, con una humedad relativa de 84% y una precipitación anual de 776 mm, según los datos del plan territorial del Gobierno Provincial de Loja (GPL, 2014).



Figura 1. Ubicación geográfica del cantón Saraguro

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque metodológico.

La investigación tiene un enfoque de carácter cuantitativo, debido a que la recolección de datos se basa en una medición numérica, es decir, las variables se miden en base a métodos estadísticos para sus conclusiones (Hernández *et al.*, 2014).

5.2.2. *Diseño de la investigación*

Este estudio es de carácter observacional descriptivo, transeccional o transversal porque la recolección de datos fue en un único momento y no se manipularon deliberadamente las variables.

5.2.3. *Tamaño de la muestra y tipo de muestreo*

Para la presente investigación se consideró un tipo de muestreo no probabilístico a conveniencia. Se consideraron 25 muestras de queso de forma aleatoria distribuidos en la feria libre.

5.2.4. *Técnicas*

5.2.4.1. *Fase de campo*

Se recolectó media libra de queso de 25 expendedores el día domingo por la mañana de la feria libre, las muestras fueron manipuladas y conservadas de acuerdo a la normativa técnica INEN NTE INEN 1 529-2, para su posterior análisis en los laboratorios de: Diagnóstico Integral Veterinario y de microbiología del centro de biotecnología de la “Universidad Nacional de Loja”

5.2.4.2. *Fase de Laboratorio*

a) *Escherichia coli*

El aislamiento e identificación de esta bacteria se realizó en base a la norma INEN 1529-8 la misma que se detalla a continuación:

- Para obtener la dilución madre se mezcló 10 g de queso con 90 ml de caldo tripticasa de soya (TSA).
- Posteriormente, de la dilución madre se inoculó por el método de estriado en placa en agar eosina azul de metileno (EMB) y MacConkey y se incubó a 37 °C por 24 horas.
- Se realizó la caracterización macroscópica del crecimiento en placa para su posterior confirmación con pruebas bioquímicas.
- Se realizaron 5 pruebas bioquímicas; agar triple azúcar hierro (TSI), lisina hierro (LIA), simmons citrato (CS), sulfuro indol motilidad (SIM) y rojo de metilo-voges proskauer (MRVP), en cada prueba se inoculó una colonia de las placas con crecimiento en EMB (selectivo diferencial) y se incubó a 37°C por 24 horas.

- Finalmente se realizó la tinción Gram en el cual se observó bacilos Gram negativos.

La interpretación de resultados positivos para *E. coli* se basó en varias características del crecimiento en las diferentes pruebas bioquímicas (Anexo 1).

b) *Salmonella* spp.

El aislamiento e identificación de la bacteria se realizó en base a la norma INEN 1529-15-1R la misma que se detalla a continuación:

- Para obtener la dilución madre se mezcló 10 g de queso con 90 ml de caldo tripticasa de soya (TSA).
- Se realizó el pre-enriquecimiento en caldo selenito-cistina y rappaport vassiliadis y se incubó a 37°C por 48 horas.
- Se realizó la inoculación por el método de estriación en agar verde brillante, desoxicolato (XLD) y salmonella-shigella (SS), posteriormente se incubó a 37°C por 24 horas.
- Se realizó la caracterización macroscópica del crecimiento en placa para su posterior confirmación con pruebas bioquímicas.
- Se realizaron 5 pruebas bioquímicas; TSI, LIA, CS, SIM y MRVP, en cada prueba se inoculó una colonia de las placas con crecimiento en XLD (selectivo diferencial) y se incubó a 37°C por 24 horas.
- Finalmente se realizó la tinción Gram en el cual se observó bacilos Gram negativos.

La interpretación de resultados positivos para *Salmonella* se basó en varias características del crecimiento en las diferentes pruebas bioquímicas (Anexo 2).

c) Resistencia antimicrobiana

Para evaluar la resistencia a los antimicrobianos se realizó un antibiograma, cuyo procedimiento se basó en CLSI, (2022).

- De las bacterias previamente aisladas se realizó cultivos puros en EMB para *E. coli* y en XLD para *Salmonella* spp. por método de estriación y se dejó incubando a 37°C por 24 horas.

- De los cultivos puros se realizó el ajuste del inóculo en la escala de Mac Farland 0.5, posterior se realizó la siembra en agar Mueller Hinton y se colocaron los discos de antibióticos a 37°C por 18 horas
- Finalizando el proceso, se midió el diámetro de cada halo de inhibición con una regla y se reportó como sensible (S), intermedio (I), o resistente (R) según el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio CLSI (Satlin *et al.*, 2020).

La selección de discos para *E. coli* fueron: amikacina (AK), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), gentamicina (CN), imipenem (IPM) y norfloxacin (NOR); de la misma manera, para *Salmonella* spp. se eligió nitrofurantoína (N), ciprofloxacina (CIP), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), enrofloxacin (ENR) y norfloxacin (NOR), aquellos antibióticos fueron seleccionados de acuerdo a otras investigaciones ya realizadas con estos productos.

5.2.5. *Variables de estudio*

- Identificación de bacterias
 - *Escherichia coli*
 - *Salmonella* spp.
- Resistencia de antibióticos
 - Sensible
 - Intermedio
 - Resistencia

5.2.6. *Procesamiento y análisis de la información*

Se utilizó estadística descriptiva para determinar la presencia o ausencia y evaluar la actividad antimicrobiana, toda la información fue registrada en una base de datos en Excel donde se realizaron tablas de frecuencias absolutas y relativas para las variables categóricas.

5.2.7. *Consideraciones éticas*

El presente estudio es un análisis para determinar la presencia de ciertos microorganismos en quesillos, por lo tanto, no se requiere de consideraciones éticas porque el trabajo es de carácter observacional.

5. Resultados

De la totalidad de las muestras recolectadas de quesillos artesanales, se observó crecimiento bacteriano en 23/25 placas con agar MacConkey y en 25/25 placas con agar Salmonella-Shigella (SS).

5.1. Análisis confirmatorio de *E. coli*.

Se tomó en consideración como colonias sospechosas para *E. coli* a las que presentaron un color rosado en agar MacConkey y verde metálico brillante para agar eosina azul de metileno (EMB) (selectivo diferencial) y finalmente se realizaron las pruebas confirmatorias a 18/25 placas (Anexo 3).

De las 18 placas con colonias sospechosas compatibles para *E. coli* se les realizó las pruebas confirmatorias con LIA, TSI, SIM, MRVP y CS (Tabla 3 y Anexo 4).

Tabla 3. Resultados de diferentes pruebas bioquímicas para *E. coli*.

Pruebas Bioquímicas												
Muestras	TSI		CS		LIA		M R- VP		SIM		R	
	Fermentación	Gas	SH 2	Viraje azul	Descarboxilación	Desaminación	SH 2	MR	Motilidad	Indol	SH 2	
Referencia	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
9	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
19	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
24	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+

Nota: R(resultados)

De las muestras sospechosas se confirmó la presencia de *E. coli* en un 12 % (3/25) (Tabla 4) y se validó la presencia de bacilos Gram negativos mediante la tinción Gram (Anexo 5).

Tabla 4. Determinación de *E. coli* en quesillos artesanales

Determinación de microorganismo	N (%)
<i>Escherichia coli</i>	
Presencia	3 (12)
Ausencia	22 (88)
Total	25 (100)

Además, se pudo constatar la presencia de otras bacterias identificadas mediante pruebas bioquímicas y la tinción Gram, dando así a *Proteus vulgaris*, *Proteus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter spp.*, *Morganella spp.*, y *Enterobacter cloacae* (Tabla 5 y Anexo 4).

Tabla 5. Determinación de otras bacterias de EMB y MacConkey.

Determinación de microorganismos	N (%)
<i>Proteus vulgaris</i>	
Presencia	4 (16)
Ausencia	21 (84)
<i>Proteus spp.</i>	
Presencia	1(4)
Ausencia	24(96)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Presencia	5(20)
Ausencia	20(80)
<i>Citrobacter spp.</i>	
Presencia	3(12)
Ausencia	22(88)
<i>Morganella spp.</i>	
Presencia	1(4)
Ausencia	24(96)
<i>Enterobacter cloacae</i>	

Presencia	1(4)
Ausencia	24(96)

5.2. Resistencia antimicrobiana de *E. coli*.

De las muestras positivas se realizó cultivos puros, por lo cual de 2 muestras de *E. coli* se determinó resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico en un 100 % (2/2) (Tabla 6).

Tabla 6. Antibiograma frente a *E. coli*

Resistencia antimicrobiana de <i>E. coli</i> .			
Discos de antibióticos	Sensible	Intermedio	Resistente
	n (%)	n (%)	n (%)
AK	2 (100)	0	0
AMC	0	0	2 (100)
NOR	2 (100)	0	0
CN	2 (100)	0	0
IPM	2 (100)	0	0

Nota: Ak: amikacina, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, NOR: norfloxacin, CN: gentamicina, IPM: imipenem.

Para determinar si la bacteria es sensible, intermedio o resistente a dichos antibióticos se midieron los halos de inhibición y se compararon con valores de referencia del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI) (Anexo 6).

Es importante mencionar que se logró evaluar la actividad antimicrobiana de otras bacterias (*Proteus vulgaris*, *Citrobacter* spp, *Morganella* spp. y *Klebsiella pneumoniae*), aunque no estaban consideradas dentro del estudio (Anexo 7).

5.3. Análisis confirmatorio de *Salmonella* spp.

Se registró crecimiento bacteriano en 5/25 placas tomando en cuenta a las características de las colonias en agar verde brillante las cuales fueron blanquecinas, en agar Salmonella-Shigella (SS) las colonias fueron transparentes con o sin centro negro y en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) presentaron colonias de color rojo con el centro negro muy similares a la bacteria (Anexo 8).

De las 5 colonias sospechosas compatibles para *Salmonella* spp. se les realizó las pruebas confirmatorias con LIA, TSI, SIM, MRVP y CS (Tabla 7 y Anexo 9).

Tabla 7. Resultados de diferentes pruebas bioquímicas para *Salmonella* spp.

Pruebas Bioquímicas												
M	TSI		CS		LIA		MR-VP		SIM		R	
	Fermentación	Gas	SH2	Viraje azul	Descarboxilación	Desaminación	SH2	MR	Motilidad	Indol	SH2	
Referencia	K/A	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
1	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+
7	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
16	+	-	+	+	.	-	+	-	+	-	+	+

Nota: R(resultados)

De las muestras sospechosas se confirmó la presencia de *Salmonella* spp. en el 12 % (3/25) (Tabla 8) y se validó la presencia de bacilos Gram negativos mediante la tinción Gram (Anexo 10).

Tabla 8. Determinación de *Salmonella* spp. en quesillos artesanales

Determinación de microorganismo	N (%)
<i>Salmonella</i> spp.	
Presencia	3 (12)
Ausencia	22 (88)
Total	25 (100)

Además, se pudo constatar la presencia de otras bacterias identificadas mediante pruebas bioquímicas y la tinción Gram, dando así a *Shigella* spp. y *Proteus* spp. (Tabla 9 y Anexo 9).

Tabla 9. Determinación de otras bacterias de XLD y SS

Determinación de microorganismos	N (%)
<i>Shigella</i> spp.	
Presencia	1 (4)
Ausencia	24 (96)

Proteus spp.

Presencia	1 (4)
Ausencia	24 (96)

5.4. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp.*

De las muestras positivas se realizó cultivos puros, por lo cual de 3 muestras de *Salmonella spp.* se determinó la resistencia en un 100 % a amoxicilina/ácido clavulánico, 33,3 % a norfloxacin y a enrofloxacin (Tabla 10).

Tabla 10. Antibiograma frente a *Salmonella spp.*

Resistencia antimicrobiana <i>Salmonella spp.</i>			
Discos de antibióticos	Sensible n (%)	Intermedio n (%)	Resistente n (%)
ENR	2 (66,66)	0	1 (33,33)
AMC	0	0	3 (100)
NOR	2 (66,66)	0	1 (33,33)
CIP	1 (33,33)	2 (66,66)	0
F	3 (100)	0	0

Nota: ENR: enrofloxacin, AMC: amoxicilina/ácido clavulánico, NOR: norfloxacin, CIP: ciprofloxacina, F, nitrofurantoína.

Para determinar si la bacteria es sensible, intermedio o resistente a dicho antibiótico se midieron los halos de inhibición y se compararon con valores de referencia del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI), (2022) (Anexo 11).

Es importante mencionar que se logró evaluar la actividad antimicrobiana de otra bacteria (*Shigella spp.*), aunque no estaba considerada dentro del estudio (Anexo 12).

6. Discusión

Las bacterias *E. coli* y *Salmonella* spp. son microorganismos patógenos asociados con enfermedades gastrointestinales y de transmisión alimentaria. El quesillo es un producto fabricado artesanalmente por lo cual pueden causar problemas al ser consumidos de forma directa. Es por ello, que se han realizado varios estudios acerca de la inocuidad de los derivados lácteos a nivel nacional e internacional debido a que es un serio problema en la salud pública (Tenezaca, 2019).

6.1. Análisis microbiológico

De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp. en un 12 % (3/25), lo cual concuerda con un estudio realizado por Tenezaca (2019) en quesillos del mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja, quien aisló *E. coli* en un 23 % (8/35), y no reporta presencia de *Salmonella* spp., dentro de la misma investigación el 30 % (3/10) de las muestras fueron procedentes del cantón Saraguro.

En el 2018 un trabajo realizado en un mercado de Tegucigalpa (Honduras), aislaron *E. coli* en un 31 % (11/36) de sus muestras en queso semiseco y quesillo, sin embargo, no encontraron *Salmonella* spp. (Gaibor, 2018). En otro estudio ejecutado por Vásquez *et al.* (2018) en 6 empresas industriales de la ciudad de Cajamarca que expenden queso, obtuvieron *E. coli* en un 33.33 % (10/30) y no reportan la presencia de *Salmonella* spp. En los municipios de Turbaco, Arjona y El Carmen de Bolívar (Cartagena-Colombia) Batista (2011) realizó el análisis microbiológico en suero costeño en la cual no encontró evidencia de *Salmonella*, ya que es inaceptable su presencia en los alimentos, lo cual es indicativo de una leche con buena calidad fisicoquímica.

De acuerdo a las mismas investigaciones mencionan que la ausencia de *Salmonella* spp. puede darse por una cocción de la cuajada hasta llegar a una temperatura interna de 70 °C por un lapso de 30 a 40 minutos (Gaibor, 2018). Por lo que, se caracteriza por su sensibilidad al calor y alta acidez (Robledo, 2015). Otra razón para no encontrar esta bacteria, se debe a que la *Salmonella* spp. se encuentra con mayor frecuencia en huevos y en los organismos de las aves por lo cual no se asocia con quesillos u otros productos lácteos (Arias, 2020).

Con respecto a investigaciones realizadas solo en *E. coli*, Montes (2019) determina una positividad del 83 % (15/18) en quesos artesanales de 6 mercados de la ciudad de Guayaquil. De la misma manera, en la parroquia Veintimilla de la provincia de Bolívar encontraron un 44 % (44/100) de *E. coli* en quesos artesanales (López, 2017). También, en un estudio realizado por Imre *et al.* (2022), aislaron *E. coli* en un 81,1 % (43/53) en muestras de queso crudo de vaca y oveja de diferentes lugares en la región de Banat, Rumania.

Según la OMS, (2018), la bacteria *E. coli* O157: H7 es un serotipo productor de toxina Shiga más importante por su impacto en la salud pública, puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, algunos en alimentos ácidos, dentro de los que se encuentra la leche cruda.

En los EE.UU. se reportaron infecciones por queso fresco con *E. coli* O157:H7 causando por lo menos 20 000 casos de enfermedad y 250 muertes por año (Miszczycha, 2013). Según el MSP (2023) se han notificado 1.694 casos de intoxicación alimentaria, los mismos que en su mayoría fueron reportados en la provincia de Pichincha con 536 casos, seguida de Guayas con 314 y en noveno puesto se encuentra Loja con 53 casos.

De acuerdo al origen de la contaminación según Magallanes (2018), la leche de la vaca posee altas concentraciones de *E. coli* que, desde el principio de la elaboración del queso la materia prima estaría contaminada. También, Gaibor, (2018); Vásquez *et al.*, (2018) indican que hay deficiencias higiénico-sanitarias durante el procedimiento de ordeño, dado que puede haber una contaminación fecal por la falta de higiene. Así mismo, Garbaj *et al.* (2022) hacen evidencia que la leche puede contaminarse del microorganismo por un mal manejo de equipos, utensilios, durante la preparación y procesamiento hasta llegar al producto final.

Estudios realizados en *Salmonella* spp. por Plaza (2013) en Guayaquil y García *et al.* (2021) en Colombia reportan una positividad del 13.71 % (8/51) y del 21,4 % (6/28) respectivamente en muestras de quesos, no obstante, en el estudio de García resalta que de sus muestras positivas el 83,3 % corresponden a queso picado salado y el 16,7 % a quesillo. Del mismo modo, en un mercado de Barrancabermeja (Colombia) aislaron *Salmonella* spp. en un 40,79 % (31/76) y 11,43 % (4/35) en queso costeño y en queso campesino respectivamente (Castro *et al.*, 2016).

Así mismo, en otro estudio de Garbaj *et al.* (2022) realizado en muestras de leche cruda, fermentada y quesos blandos, maasora y ricotta de diferentes localidades de Libia encontraron 16 % (21/131) de *Salmonella* spp. y de las muestras positivas el 42,8 % (9/21) fueron confirmados como *S. enterica*. Según García *et al.* (2021) y Castro *et al.* (2016) mencionan que existe positividad a la bacteria en queso picado salado, debido a que no hay un control adecuado de temperatura ni concentración de cloruros.

Los estudios analizados coinciden con la fuente de contaminación, por lo que la leche no tiene un proceso de pasteurización previo a la elaboración de los derivados lácteos, además hay una inadecuada manipulación, falta de refrigeración, transporte y no cumplen con las medidas de control sanitario al momento de expender el producto lo cual puede estar asociado a adquirir diversos microorganismos (García *et al.*, 2021).

En el mundo se estima que las infecciones por *Salmonella* spp. causa 155 000 muertes al año asociadas a alimentos de origen animal (Campioni & Falcão, 2012). De la misma manera, de 200 a 500 casos de salmonelosis por 100 000 habitantes se reportaron en América Latina cada año (Cardona *et al.*, 2007). En la cual la *Salmonella enterica* es uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos (Bayona, 2012).

Según el MSP (2023) en las 24 provincias se han notificado 310 casos de Salmonelosis por enfermedades de transmisión alimentaria más comunes, los mismos fueron reportados en la provincia de Loja como el 3 puesto con 24 casos de salmonelosis.

Existen grupos de bacterias gramnegativas en quesillos que se encuentran de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como también, formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre (García y Rodríguez, 2010). Se logró la identificación de otras bacterias como *a Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp., *Proteus vulgaris*, *Morganella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Shigella* spp. y *Proteus* spp. aisladas en las muestras de quesillos artesanales. Los microorganismos como *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp, y *Shigella* spp. aislados, no hacen parte del microbiota normal del queso y son otras bacterias principales causantes de las ETAs (Merchán *et al.*, 2019). La presencia de *Klebsiella pneumoniae* puede estar posiblemente por la colonización y sobreinfección de la ubre de la vaca en el momento del ordeño (Tabla *et al.*, 2016).

6.2. Resistencia antimicrobiana

Según la OMS, (2020), la resistencia a los antimicrobianos en los últimos años es un problema y amenaza mundial que se puede generar bajo condiciones naturales o por el uso inadecuado y excesivo de los antimicrobianos, de no combatirse a tiempo puede tener serias repercusiones en la salud humana, sanidad animal, vegetal y en el ambiente (Yagui, 2018). En este estudio se analizó la resistencia a los antimicrobianos de *E. coli* y *Salmonella* spp. en quesillos artesanales de leche cruda.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la resistencia a los antimicrobianos a *E. coli* en esta investigación corresponde en un 100 % (2/25) a amoxicilina/ácido clavulánico. Un estudio realizado por Trujillo (2016) en el mercado de Santa Rosa, ciudad de Riobamba encontraron resistencia a gentamicina con el 9.5 % y 57.1 % a amoxicilina. Del mismo modo, en un estudio realizado en productos lácteos artesanales en Mérida (Venezuela) encontraron resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico 4,4 % (2/45), gentamicina 8.9 % (4/45) y sensible a imipenem y amikacina con 100 % (Guillén, 2014).

En 2016 realizaron una investigación en zonas rurales del cantón Riobamba en queso fresco determinando una sensibilidad del 100 % a amoxicilina/ácido clavulánico y a imipenem (Barrionuevo, 2016). Según Imre *et al.* (2022), en la región de Rumania determinaron una resistencia en (28/43), contra NOR (28,6 %) y AMC (25 %), pero ninguno de los aislamientos fue resistente a AMK, GEN, IPM y CIP respectivamente. Además, el resto de los aislados (15/43), probados con otro método fueron resistentes a ENR (100 %) y AMC (20 %) y susceptibles a GEN.

La amoxicilina/ácido clavulánico forma parte de la familia de las betalactamasas por lo cual la resistencia observada en el estudio se puede estar asociado con el gen BLEE dentro de la bacteria. Los antibióticos que forman parte de las quinolonas no se encontraron resistentes en este estudio, pero cabe mencionar, que los genes resistentes a quinolonas destacan el gen aac (6') Ib-cr de localización plasmídica, estos, distribuidos de manera general y más frecuentes en América Latina. (Peñaloza & Aspiazú, 2021).

De acuerdo a los resultados obtenidos de la resistencia a los antimicrobianos en *Salmonella* spp. en esta investigación se determinó la resistencia en un 100 % (3/3) a AMC, 33,33 % (1/3) a

NOR y ENR. De la misma manera un estudio realizado (Garbaj *et al.*, 2022) en muestras de leche cruda, leche cruda fermentada y quesos blandos, maasora y ricotta de diferentes localidades de Libia encontró resistencia en *S. entérica* en un 100% a amoxicilina, 11 % AMC y F. 100 %; sensible en un 100 % a CIP, AMC 67 %.

La resistencia registrada para AMC puede explicarse por el uso principal de estos medicamentos en el tratamiento de las infecciones de las glándulas mamarias (Imre *et al.*, 2022). De acuerdo a otras investigaciones analizadas, puede explicarse que la principal fuente de contaminación, se debe al uso excesivo, indebido, preferido y sin restricciones de antibióticos. Estas prácticas aumentan la resistencia a los antimicrobianos entre las cepas bacterianas, especialmente en los países en desarrollo (Guillén, 2014; Barrionuevo, 2016; Garbaj *et al.*, 2022).

La bacteria *E. coli* actúa ante la gentamicina, norfloxacin, imipenem y *Salmonella* spp. ante nitrofurantoína y ciprofloxacina presentó un alto nivel de sensibilidad, se puede mencionar que en base a los estudios anteriormente mencionados y en base a la evaluación de la investigación no son antibióticos de uso común en los ganaderos. Lo mismo que puede explicar la ausencia del desarrollo de resistencias por parte de estos microorganismos (Garbaj *et al.*, 2022).

La familia *Enterobacteriaceae* que han incrementado notablemente su resistencia, especialmente por mecanismos de enzimas de tipo betalactamasas de varios tipos, las de amplio espectro tienen la capacidad de hidrolizar aminopenicilinas, carboxipenicilinas y cefalosporinas de primera generación, mientras que las de espectro extendido inactivan a aquellas cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Avilés *et al.*, 2016; Fariña, 2016).

El incremento de las bacterias resistentes a los carbapenemes (imipenem, meropenem), tanto en enterobacterias como en bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa ha hecho que los antibióticos de uso sean las alternativas terapéuticas tóxicas y/o muy costosas, como la colistina. Además, es preocupante la resistencia a las fluoroquinolonas (norfloxacin, ciprofloxacina, levofloxacin), excelente antibiótico por su farmacocinética y facilidad de administración por vía oral, pero con la desventaja de presentar resistencias cruzadas entre ellas (Fariña, 2016).

Finalmente, los residuos de antibióticos observados en las bacterias generan un riesgo en la salud pública debido a que la leche y sus derivados es un alimento básico de la población, en especial a las familias de productores de leche, así como los empleados de las lecherías (Jayarao *et al.* 2006). Por tanto, el consumo con contaminantes como los antibióticos, producen la aparición de multiresistencia en bacterias patógenas, alergias, disbacteriosis, sobrecrecimientos y algunos efectos tóxicos (Luna, 2004). Además, pueden inducir en la flora intestinal desarrollando microorganismos patógenos y reducción de la síntesis de vitaminas esenciales (Máttar *et al.* 2009).

7. Conclusiones

- Se determinó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp. en los quesillos artesanales expendidos en la feria libre del cantón Saraguro.
- Se evaluó la resistencia antimicrobiana, obteniendo una resistencia marcada a amoxicilina/ácido clavulánico por *E. coli*, así como también la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. a amoxicilina/ácido clavulánico, norfloxacin y enrofloxacin, lo cual puede estar asociado al mal uso de antibióticos.
- Se identificó otras bacterias como la *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp., *Morganella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Shigella* spp., *Proteus* spp. y *Proteus vulgaris*.

8. Recomendaciones

- Realizar estudios enfocados en la búsqueda de otras enterobacterias y factores asociados con el fin de crear alternativas que ayuden controlar y minimizar la carga microbiana del producto terminado.
- Evaluar los grupos patógenos más frecuentes y problemáticos de *E. coli* en los productos lácteos del cantón Saraguro.
- Evaluar la resistencia antimicrobiana de enterobacterias presentes en los quesillos artesanales del cantón Saraguro.
- Realizar el análisis de la materia prima y el proceso de producción de los derivados lácteos para determinar los puntos con mayor riesgo de contaminación.

9. Bibliografía

- Arias, F. C. H., & Buelga, J. A. S. (2005). Prevalencia de *Salmonella* spp. en pescado fresco expendido en Pamplona (Norte de Santander). *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 3(2), 34-42.
- Arias Tenesaca, A. A. (2020). Determinación de la prevalencia de *Salmonella* spp. en huevos de gallina tipo criollo comercializados en mercados municipales (Bachelor's thesis).
- Avilés, C., Betancour, P., Velasco, C. L., Godoy, R., Barthel, E., & Martínez, F. (2016). Factores asociados a infecciones urinarias producidas por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido: una cohorte prospectiva. *Revista chilena de infectología*, 33(6), 628-634.
- Barrionuevo Yungan, A. A. (2016). Determinación del perfil de resistencia/susceptibilidad antimicrobiana en cepas de bacterias del grupo de enterobacterias aisladas en queso fresco artesanal elaborados en zonas rurales del cantón Riobamba (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.).
- Balagurusamy, N. (2016). Mecanismos de resistencia intrínseca y adquirida a antibióticos en bacterias. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/312324922_Mecanismos_de_resistencia_intrinseca_y_adquirida_a_antibioticos_en_bacterias
- Batista Cañate, K. (2011). Evaluación y caracterización Físicoquímico y Microbiológico del suero costeño elaborado en el municipio de Turbaco, Arjona y el Carmen de Bolívar. Universidad de Cartagena.
- Bayona, M. A. (2012). Prevalencia de *Salmonella* y enteroparásitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes y restaurantes en un sector del norte de Bogotá, Colombia.
- Bell, C. y Kyriakides, A. (2008). *Salmonella: una aproximación práctica al organismo y su control en los alimentos*. John Wiley & Sons.
- Borsoi, A., de Souza, H., Pippi, C., & Pinheiro, V. (2012). Número mais provável de *Salmonella* aisladas de carcaças de frango resfriadas.

- Calderón, G., & Aguilar, L. (2016). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Rev Med Cos Cen [revista en internet]*, 73, 621.
- Campioni, F., Bergamini, A. M. M., & Falcão, J. P. (2012). Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis isolated from food and humans over a 24-year period in Brazil. *Food Microbiology*, 32(2), 254-264.
- Cardona-Castro, N. M., Sánchez-Jiménez, M. M., Usuga-Silva, L. Y., Arboleda-Naranjo, M., Garzón, E., Vélez, A., ... & Agudelo, C. I. (2007). Caracterización de dos brotes de fiebre tifoidea en Apartadó, Antioquia, 2005. *Biomédica*, 27(2), 236-243.
- Castillo, M., Tandazo, D., Landázuri, A., Piedra, L., Pineda, E., Riofrio, A., ... & Cumbicus, E. (2008). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y determinación de las características organolépticas y físico-químicas del queso que se expende en los mercados de la ciudad de Loja. Universidad Técnica Particular de Loja. Proyecto de tesis.
- Castro, A. (2014). Bacteriología médica basada en problema. <https://cpncampus.com/biblioteca/files/original/78531a87565ef0f92c3af050c08c58ea.pdf>.
- Castro, A. D., Orlando, O., Atencia, P., Bermúdez, S. C., Sánchez, J. V., Laudid, M., & Padilla, O. (2016). Detección de *Listeria* spp y *Salmonella* spp. en queso y su relación con las características fisicoquímica. 12(23), 91-98.
- Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2017). La *Salmonella* y los huevos. Obtenido de <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/salmonellahuevos/index.htm>
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (32nd ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Espinoza, F. E., Murrieta, A. F., Córdova, M. F., & Nevárez, G. C. (2020). Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo. *Journal of Science and Research*, 5(CININGEC), 334-344.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. (2023). Carne, huevos y leche son fuente esencial de nutrientes, en especial para los más

vulnerables. Obtenido de <https://www.fao.org/newsroom/detail/meat-eggs-and-milk-essential-source-of-nutrients-new-fao-report-says-250423/es>

- Fariña, N. (2016). Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 14(1), 04-05.
- García - Rincón, P. A., Grajales-Zuleta, A. A., Rodríguez-Pérez, W., Ortega-Montealegre, M. D., & Guaracas-Gutiérrez, Y. A. (2021). Determinación de *Salmonella* spp. en expendios de quesillo y queso picado salado destinados para consumo humano en el Caquetá – Colombia. *Ingeniería y Competitividad*, 24(1). <https://doi.org/10.25100/iyc.v24i1.11074>
- García, y Rodríguez. (2010). Enterobacterias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(51), 3426–3431
- Gaibor, M. F. (2018). Incidencia de *E. coli* O157 y *Salmonella* spp. en queso semiseco y quesillo artesanal en seis puntos de venta en Tegucigalpa. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
- Garbaj, A. M., Gawella, T. B. Ben, Sherif, J. A., & Naas, H. T. (2022). Occurrence and antibiogram of multidrug-resistant *Salmonella* enterica isolated from dairy products in Libya. 15.
- Gobierno Autónomo Descentralizado del cantón Saraguro [GAD-Saraguro]. (2015). Plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Saraguro. Periodo 2014-2019. Saraguro, Ecuador: GAD-Saraguro. Recuperado de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/1160001130001_DIAGNOSTICO-%20PDyOT%20Saraguro2015_15-03-2015_19-08-17.pdf
- Gonzales-Flores, T. & Rojas-Herrera, R.A. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública de México*, 47(5): 388-390. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v47n5/28385.pdf>
- Gobierno Provincial de Loja. (2014). Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Loja. Recuperado a partir de file:///C:/Users/maquina/Documents/plan_de_desarrollo_y_ordenamiento_territorial01.pdf

- Guillén, L., Millán, B., & Araque, M. (2014). Caracterización molecular de cepas de *Escherichia coli* aisladas de productos lácteos artesanales elaborados en Mérida, Venezuela. *Infectio*, 18(3), 100-108.
- Guthrie, RK (2018). *Salmonella*. Prensa CRC.
- Hall, G.V., Kirk, M.D., Ashbolt, R., Stafford, R. & Lalor, K. (2006). Frequency of infectious gastrointestinal illness in Australia, 2002: regional, seasonal and demographic variation. *Epidemiol Infect*, 134 (1): 111-8. <https://doi.org/10.1017/S0950268805004656>
- Hernández Sampieri, Roberto; Fernández Collado, Carlos y Baptista Lucio, Pilar. (2014). *Metodología de la Investigación* (sexta edición). Editorial: McGrawHill. México.
- Imre, K.; Ban-Cucerzan, A.; Herman, V.; Sallam, K.I.; Cristina, R.T.; Abd-Elghany, S.M.; Morar, D.; Popa, S.A.; Imre, M.; Morar, A. (2022) Occurrence, Pathogenic Potential and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Cheese Commercialized in Banat Region, Romania. *Antibiotics*, 11, 721. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060721>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2012). Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos. En Norma técnica ecuatoriana (Primera edición). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1528.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2013). Control microbiológico de los alimentos. *Salmonella*. Método de detección. Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-15-1R.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2016, September 30). Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de *Escherichia coli* presuntiva por la técnica del número más probable. Instituto Ecuatoriano de Normalización. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-8-1.pdf
- Jayarao, B. M., Donaldson, S. C., Straley, B. A., Sawant, A. A., Hegde, N. V., & Brown, J. L. (2006). A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. *Journal of dairy science*, 89(7), 2451-2458.

- Kantor, Isabel N., Lüthy, Isabel A., & Ritacco, Viviana. (2021). Las variantes de SARS-CoV-2 y la llamada resistencia a las vacunas. *Medicina (Buenos Aires)*, 81(3), 421-426. Recuperado en 07 de noviembre de 2022, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802021000300421&lng=es&tlng=es.
- Lara, D.M. (2008). Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9(1),124-153
- Lepe, J. A., & Martínez-Martínez, L. (2022). Mecanismos de resistencia en bacterias gramnegativas. *Medicina Intensiva*, 46(7), 392-402.
- Legetic, B., Medici, A., Hernández-Ávila, M., Alleyne, G. A., & Hennis, A. (2017). Las dimensiones económicas de las enfermedades no transmisibles en América Latina y el Caribe.
- Linscott, A. J. (2011). Food-borne illnesses. *Clinical microbiology newsletter*, 33(6), 41-45.
- López, E. (2017). Determinación de *Escherichia coli* en quesos artesanales que se expenden en el mercado diez de noviembre de la ciudad de Guaranda (Doctoral dissertation, Tesis de grado. Universidad de Estatal de Bolívar, Guaranda-Ecuador).
- Loera-Valenzuela, P., López-Ortiz, C., Romero-Vela, C., Luévanos, M., & Balagurusamy, N. (2016). Mecanismos de resistencia intrínseca y adquirida a antibióticos en bacterias. *RMT*, 8(2), 67-76.
- Luna, C. (2004). Manual sobre el manejo de los medicamentos veterinarios y la calidad higiénica integral de los lácteos: guía para los productores artesanales y las pequeñas empresas procesadoras de lácteos. Editorial EUNA, Heredia. p.
- Magallanes Bajaña, I. J. (2018). Determinación de los niveles de *Coliformes totales* y *Escherichia coli* en suero y leche cruda (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil).
- Marchetti, M. L., Errecalde, J., & Mestorino, N. (2011). Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de eflujo. Impacto en la multiresistencia. *Analecta Veterinaria*, 31(2), 40-53.

- Martínez, L. (2016). Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, 1(1), 7–16. Retrieved from http://www.humv.es/revista-valdecilla/1_1/1_mecanismos_de_resistencia_a_los_antimicrobianos.pdf
- Martínez, G. T. (2016). El agua en la industria alimentaria. *Sitio Argentino de Producción Animal*.
- Máttar, S., Calderón, A., Sotelo, D., Sierra, M., & Tordecilla, G. (2009). Detección de antibióticos en leches: un problema de salud pública. *Revista de Salud Pública, 11*, 579-590.
- Merchant, I. A., & Packer, R. A. (1958). *Bacteriología y virología veterinarias*. Zaragoza: Editorial Acribia.
- Merchán, N., Zurymar, S., Niño, L., & Urbano, E. (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Revista chilena de nutrición, 46*(3), 288-294.
- Miszczucha, S. D., Perrin, F., Ganet, S., Jamet, E., Tenenhaus-Aziza, F., Montel, M. C., & Thevenot-Sergentet, D. (2013). Behavior of different Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes in various experimentally contaminated raw-milk cheeses. *Applied and environmental microbiology, 79*(1), 150-158.
- Montes Cano, D. G. (2019). Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en quesos artesanales expendidos en la ciudad de Guayaquil (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil).
- Moreno, K. (2013). Carbapenémicos: Tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista Médica de Costa Rica Y Centroamérica, (608)*, 599–605. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2010.12.006>
- Ministerio de Salud Pública [MSP]. (2021). Subsistema de vigilancia sive—Alerta de enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/GACETAETAS-SEM-22.pdf>
- Ministerio de Salud Pública. (2023). Enfermedades Transmitidas por Agua y Alimentos . obtenido de <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2023/03/etas-se-10.pdf>
- Mueller, M., & Tainter, C. R. (2022). *Escherichia coli*. StatPearls [Internet]. *Salmonella - Rufus K. Guthrie - Google Libros*. (n.d.). Retrieved October 25, 2022, from

https://books.google.com.ec/books?id=J0taDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=salmonella&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=salmonella&f=false

Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11(1), 142-201.

National Council of Educational Research and Training [NCERT]. (2009). Human ecology and family sciences: Vol. Parte I (First edition, p. 16). Shagun Offset Press. <https://ncert.nic.in/textbook/pdf/kehe1ps.pdf>

Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2014). El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>

Organización Mundial de La Salud. (2017a). Resistencia a los antibióticos. Organización Mundial de la Salud, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/>.

Organización Mundial de la Salud. (2017b). Enfermedades de transmisión alimentaria. Obtenido de http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/

Organización Mundial de la Salud. (2018). Calidad e inocuidad de alimentos. <https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/inocuidad-alimentos.aspx>

Organización Mundial de la Salud. (2020a). Inocuidad de los alimentos. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Mundial de la Salud. (2020b, October 3). Resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de La Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobialresistance>

Organización Mundial de la Salud. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. Obtenido de <https://www.who.int/es/health-topics/antimicrobial-resistance>

Patarroyo, C. E. G., & Ochoa, D. A. R. (2020). Sobre la relación entre el consumo de leche cruda y la salud humana: una revisión sistemática. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 30(2), 23.

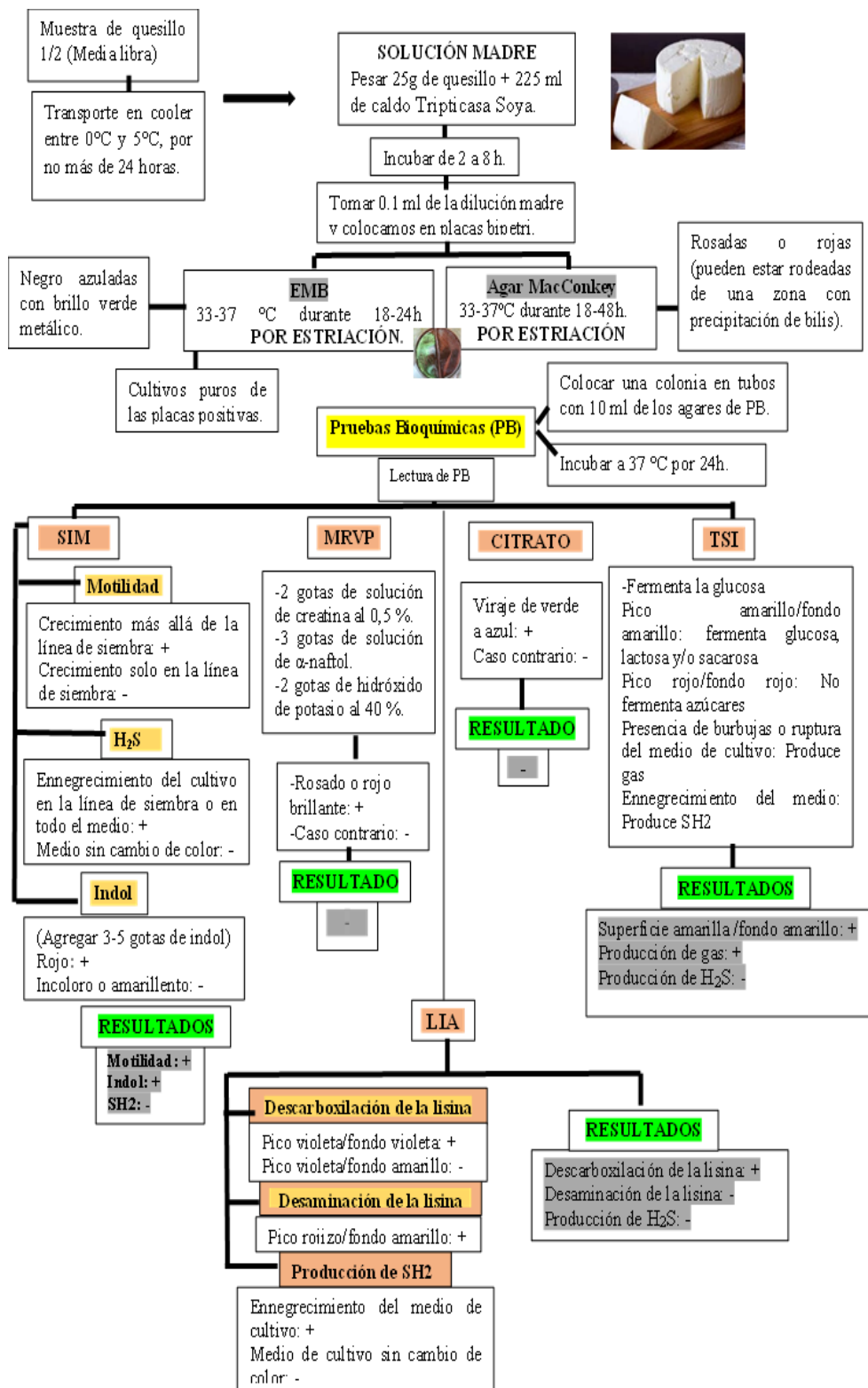
Peñaloza Piña, L. M., & Aspiazu Hinojosa, K. A. (2021). Mecanismos de resistencia de *Escherichia coli* en América Latina. *Vive Revista de Salud*, 4(11), 90-103.

- Plaza Ibarra, L. A. (2013). Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella* (Bachelor's thesis).
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology spectrum*, 6(4), 6-4.
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (Seventh). Wolters Kluwer
- Roberts, J.A. & Sockett, P.N. (1994). The socio-economic impact of human *Salmonella enteritidis* infection. *Int J Food Microbiol*, 21 (1-2): 117-29. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90205-4](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90205-4)
- Robledo Lopez, A. (2015). Investigación de *Salmonella* spp. en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya).
- Sánchez, P., Muñoz, R., & Gutiérrez, N. P. (2012). Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Spei Domus*, 8(17).
- Satlin, M. J., Lewis, J. S., Weinstein, M. P., Patel, J., Humphries, R. M., Kahlmeter, G., ... & Turnidge, J. (2020). Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing position statements on polymyxin B and colistin clinical breakpoints. *Clinical Infectious Diseases*, 71(9), e523-e529.
- Steniner, T. (2013). Tratamiento de enfermedades transmitidas por alimentos. *Clínicas de Enfermedades Infecciosas*, 27 (3), 555-576.
- Tabla, Rafael; Gómez, Antonia; Simancas, Alfredo; Rebollo, José Emilio; Molina, Felipe; Roa, Isidro (2016). Enterobacteriaceae species during manufacturing and ripening of semi-hard and soft raw ewe's milk cheese: Gas production capacity. *Small Ruminant Research*, 145(), 123–129. doi:10.1016/j.smallrumres.2016.11.008

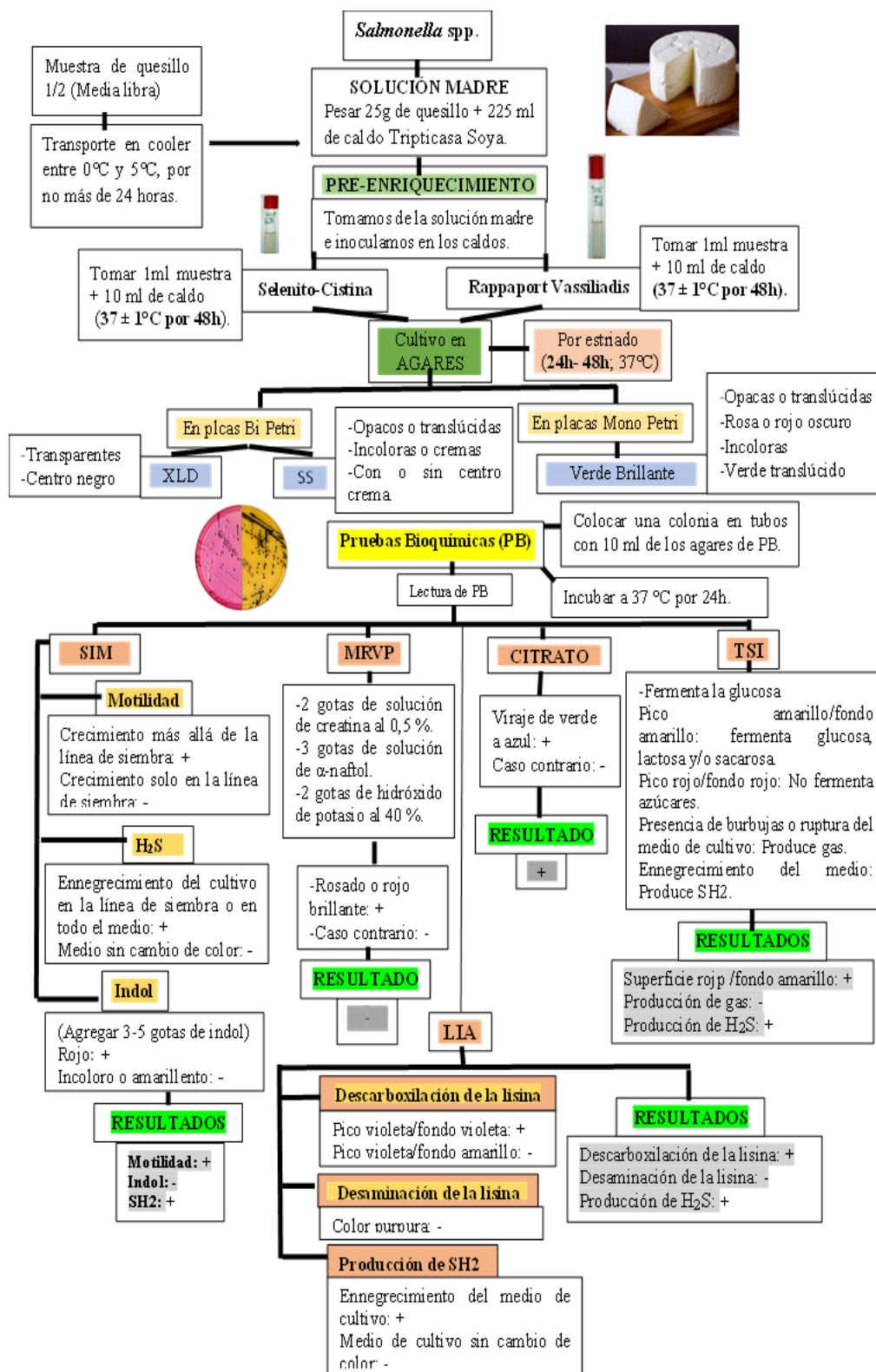
- Tenezaca, B. (2019). Análisis microbiológico de quesillos que se expenden en el mercado gran Colombia de la ciudad de Loja. In Universidad Nacional De Loja. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS>
- Trujillo Chávez, C. E. (2016). Análisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos de la leche cruda que se expende en el mercado de Santa Rosa, Ciudad de Riobamba (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
- Uddin, M. B., Alam, M. N., Hasan, M., Hossain, S. M. B., Debnath, M., Begum, R., Samad, M. A., Hoque, S. F., Chowdhury, M. S. R., Rahman, M. M., Hossain, M. M., Hassan, M. M., Lundkvist, Å., Järhult, J. D., El Zowalaty, M. E., & Ahmed, S. S. U. (2022). Molecular Detection of Colistin Resistance *mcr-1* Gene in Multidrug Resistant *Escherichia coli* Isolated from Chicken. *Antibiotics*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010097>
- Uzzau, S., Brown, D. J., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., Casadesús, J., Platt, D. J., & Olsen, J. E. (2000). Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiology and Infection*, 125(2), 229–255. <https://doi.org/10.1017/S0950268899004379>
- Varma, JK, Marcus, R., Stenzel, SA, Hanna, SS, Gettner, S., Anderson, BJ, ... & Angulo, FJ (2006). *Salmonella* Newport-MDR AmpC altamente resistente transmitida a través del suministro doméstico de alimentos de EE. UU.: un estudio de casos y controles de FoodNet de infecciones esporádicas por *Salmonella* Newport, 2002–2003. *El Diario de enfermedades infecciosas*, 194 (2), 222-230.
- Vásquez, V., SalhuanaG, J. G., Jiménez, L. A., & Abanto Ríos, L. M. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología aplicada*, 17(1), 45-51.
- Vignoli, R., & Seija, V. (2008). Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Book, 649–662. Retrieved from <https://docplayer.es/24814761-Principales-mecanismos-de-resistencia-antibiotica-i-bado-v-garcia-l-robino-n-cordeiro-v-seija-r-vignoli.html>
- Yagui, M. (2018). Antimicrobial resistance: a new approach and opportunity. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 35(1), 7-8.

10. Anexos.

Anexo 1. Flujoograma de aislamiento de *E. coli*



Anexo 2. Flujoograma del aislamiento de *Salmonella* spp.



Anexo 3. Crecimiento bacteriano de *E. coli*.



Colonias sospechosas en EMB y MacConkey.

Anexo 4. Pruebas bioquímicas para *E. coli*.

Pruebas Bioquímicas												
M	TSI			SC		LIA		MR-VP		SIM		Resultados
	Fermentación	Gases	SH ₂	Viraje azul	Descarboxilación	Desaminación	S H ₂	MR	Motilidad	Indol	SH ₂	
2	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	<i>Proteus vulgaris</i>
7	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>
9*	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	<i>E. coli</i>
10	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	<i>Citrobacter spp.</i>
11	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter spp.</i>
12	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Morganella spp.</i>
13	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>

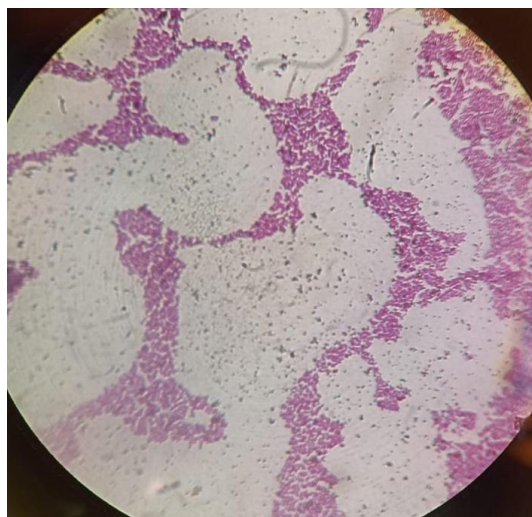
15	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>
16	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i>
17	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>Proteus spp.</i>
19*	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	<i>E. coli</i>
20	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	<i>Citrobacter spp.</i>
22	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
23	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
24*	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	<i>E. coli</i>
25	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Nota: *(Muestras positivas para *E. coli*), M(Muestras)



Batería bioquímica confirmatoria de *E. coli*.

Anexo 5. Tinción Gram para E. coli



Bacilos Gram negativos

Anexo 6. Medidas de los halos de inhibición para E. coli.

Resistencia Antimicrobiana para <i>E. coli</i> .					
Antibióticos	Valores de referencia			Muestras	
	S	I	R	#19	#24
Amikacina 30ug	≥17	15-16	≤14	21mm(S)	23mm(S)
Norfloxacina 10 ug	≥17	13-16	≤12	26mm(S)	39mm(S)
Amoxicilina/ácido clavulánico 30 ug	≥18	14-17	≤13	1mm(R)	6mm(R)
Gentamicina	≥15	13-14	≤12	22mm(S)	28mm(S)
Imipenem 300 ug	≥23	20-22	≤19	31mm(S)	31mm(S)

Nota. S (sensible), I (intermedio) y R (resistente)

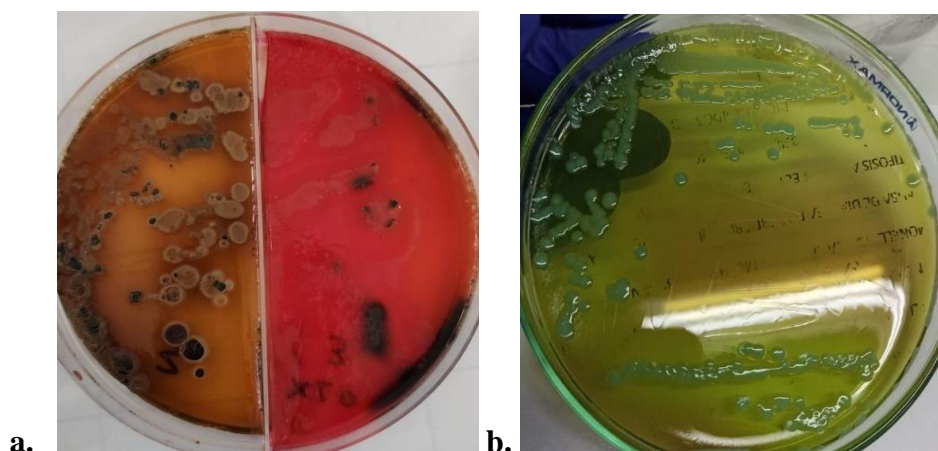
Anexo 7. Medidas de los halos de inhibición de otras enterobacterias.

Resistencia Antimicrobiana

Antibióticos	Valores de referencia			Muestras								
	S	I	R	<i>P. vulgaris</i>	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Morganella</i> spp.	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	
				#7	#11	#12	#13	#15	#18	#22	#25	
Amikacina												
30ug	≥17	15-16	≤14	25mm(S)	0mm(R)	30mm(S)	0mm(R)	27mm(S)	23mm(S)	27mm(S)	0 mm(R)	
Norfloxacin												
10 ug	≥17	13-16	≤12	35mm(S)	0mm(R)	40mm(S)	37mm(S)	34mm(S)	0mm(R)	24mm(S)	0mm(R)	
Amoxicilina/ácido clavulánico												
30 ug	≥18	14-17	≤13	3mm(R)	16mm(I)	9mm(R)	8mm(R)	1mm(R)	0mm(R)	2mm(R)	20mm(S)	
Gentamicina	≥15	13-14	≤12	30mm(S)	0mm(R)	21mm(S)	0mm(R)	20mm(S)	17mm(S)	24mm(S)	0 mm(R)	
Imipenem 300ug	≥23	20-22	≤19	25mm(S)	33mm(S)	31mm(S)	35mm(S)	30mm(S)	22mm(I)	14mm(R)	25mm(S)	

Nota. S (sensible), I (intermedio) y R (resistente)

Anexo 8. Crecimiento bacteriano de Salmonella spp.

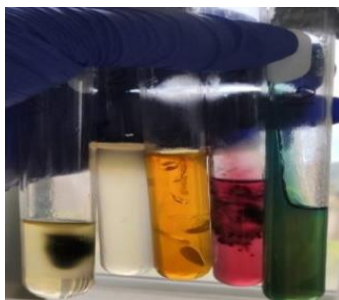


a. Colonias con puntos negros sospechosas a *Salmonella* spp. en agar XLD y SS. **b.** Colonias blanquecinas en agar verde brillante.

Anexo 9. Pruebas bioquímicas para *Salmonella* spp.

Pruebas Bioquímicas												
M	TSI		CS		LIA		MR-VP		SIM		Resultados	
	Fermentación	Gas	SH2	Viraje azul	Descarboxilación	Desaminación	SH2	MR	Motilidad	Indol	SH2	
1*	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>Salmonella</i> spp.
2	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	<i>Shigella</i> spp.
3	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	<i>Proteus</i> spp.
7*	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>Salmonella</i> spp.
16*	+	-	+	+	.	-	+	-	+	-	+	<i>Salmonella</i> spp.

Nota: *(Muestras positivas para *Salmonella* spp.), M(Muestras)



Batería bioquímica confirmatoria de *Salmonella* spp.

Anexo 10. Tinción Gram para *Salmonella* spp.



Bacilos Gram negativos

Salmonella spp.

Anexo 11. Medidas de los halos de inhibición para *Salmonella* spp.

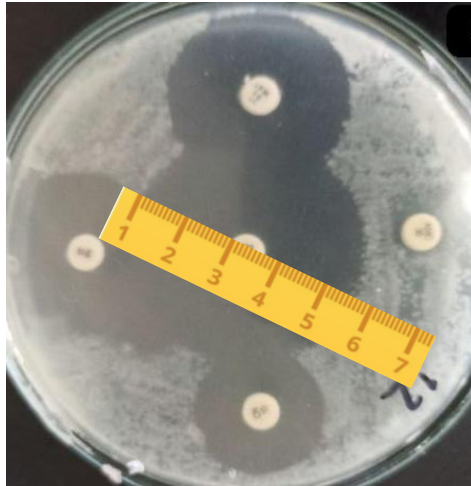
Resistencia Antimicrobiana para <i>Salmonella</i> spp.						
Antibióticos	Valores de referencia			Muestras		
	S	I	R	#1	#7	#16
Enrofloxacin 5ug	≥23	17-22	≤16	33mm (S)	33 mm(S)	11 mm(R).
Norfloxacin 10 ug	≥17	13-16	≤12	32mm(S)	31 mm(S)	9 mm(R)
Amocilina/ácido clavulánico 30 ug	≥18	14-17	≤13	9 mm(R)	5mm(R)	5mm(R)
Ciprofloxacina 5 ug	≥31	21-30	≤20	30mm(I)	37mm(S)	21mm(I).
Nitrofurantoina 300 ug	≥17	15-16	≤14	20mm(S)	22mm(S)	20mm(S)

Nota. S(sensible), I(intermedio) y R(resistente).

Anexo 12. Halos de inhibición para *Shigella* spp.

Resistencia Antimicrobiana para <i>Shigella</i> spp.				
Antibióticos	Valores de referencia			Muestras
	S	I	R	#2
Enrofloxacin 5ug	≥23	17-22	≤16	30 mm(S)
Norfloxacin 10 ug	≥17	13-16	≤12	7 mm (R)
Amocilina/ácido clavulánico 30 ug	≥18	14-17	≤13	5mm(R)
Ciprofloxacina 5 ug	≥31	21-30	≤20	30mm(I)
Nitrofurantoina 300 ug	≥17	15-16	≤14	21mm(S)

Nota. S (sensible), I (intermedio) y R (resistente)



Agar Mueller Hinton con halos de inhibición.

English Speak Up Center

Nosotros "English Speak Up Center"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen de Trabajo de Integración Curricular titulado "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SALMONELLA* SPP. AISLADAS EN QUESILLOS ARTESANALES DEL CANTÓN SARAGURO." documento adjunto solicitado por el señor Adrian Medardo Zhunaula Morocho con cédula de ciudadanía número 1900949395 ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "English Speak Up Center"

Esta es una traducción textual del documento adjunto. El traductor es competente y autorizado para realizar traducciones.

Loja, 19 de septiembre de 2023


Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo
DIRECTORA ACADÉMICA

DIRECCION: SUCRE 207-46 ENTRE AZUAY Y MIGUEL RIOFRIO

TELÉFONO: 099 5263 264