



Universidad  
Nacional  
de Loja

# Universidad Nacional de Loja

## Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

### Carrera de Medicina Veterinaria

# Evaluación de la Resistencia Antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas en leche cruda comercializada en mercados de la ciudad de Loja

Trabajo de Integración Curricular previo a la  
obtención del título de Médica Veterinaria

#### AUTOR:

Nicole Paulina Cango Jara

#### DIRECTORA:

Bqf. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana MSc.

Loja - Ecuador

2023

## Certificación

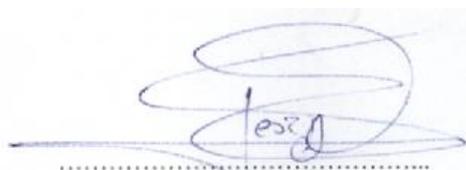
Loja, 24 de febrero de 2023

Bqf. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana MSc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

### CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **“Evaluación de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas en la leche cruda comercializada en mercados de la ciudad de Loja”** de autoría de la estudiante **Nicole Paulina Cango Jara**, con cédula de identidad Nro. **1105916512**, previo a la obtención del título de **MÉDICA VETERINARIA**, 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.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jessica Ilenia Valdivieso Tituana', is written over a horizontal dotted line.

Bqf. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana MSc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## **Autoría**

Yo, **Nicole Paulina Cango Jara**, declaro ser autora 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:** 1105916512

**Fecha:** 15 de septiembre de 2023

**Correo electrónico:** nicole.cango@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0990155828

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

Yo, **Nicole Paulina Cango Jara**, declaro ser autor/a del Trabajo de Integración Curricular denominado: **“Evaluación de la Resistencia Antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas en leche cruda comercializada en mercados de la ciudad de Loja”**, como requisito para optar por 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 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 quince días del mes de septiembre de dos mil veintitrés.



**Firma:**

**Autor/a:** Nicole Paulina Cango Jara

**Cédula:** 1105916512

**Dirección:** México entre Brasil y Curazao

**Correo electrónico:** nicole.cango@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0990155828

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Director/a del Trabajo de Integración Curricular:** Bqf. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana MSc.

## **Dedicatoria**

A Dios, por la oportunidad de un día más de vida y por estar en cada uno de los pasos que doy, dándome fuerzas y sabiduría, por poner en mi camino aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante toda mi vida.

A mis padres, Oswaldo Cango y Lorena Jara, quienes han sido un pilar fundamental en mi vida y me han brindado todo su apoyo incondicional, estudios y su entera confianza en cada reto que se me ha presentado, ya que con su esfuerzo y sacrificio he podido triunfar e ir avanzando hasta cumplir cada uno de mis sueños. Gracias por ser mi ejemplo de perseverancia y constancia y por todo su amor puro.

A mis hermanos y demás familiares, por brindarme paciencia y alentarme a no rendirme jamás, por brindarme siempre su apoyo incondicional y buenos consejos para poder encontrarme hoy cumpliendo una meta más soñada.

*Nicole Paulina Cango Jara*

## **Agradecimiento**

Mis sinceros agradecimientos para todas aquellas personas que directa e indirectamente hicieron posible este trabajo investigativo.

A la Universidad Nacional de Loja y a la Facultad Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables, igualmente la Carrera de Medicina Veterinaria; así mismo a todos mis docentes por la paciencia, por compartir sus conocimientos y sabios consejos.

De manera muy especial a mi directora de tesis Bqf. Jessica Valdivieso Tituana MSc., por brindarme el tiempo, conocimiento y todo su apoyo durante el proceso de realización del presente trabajo y que se ha culminado perfectamente.

*Nicole Paulina Cango Jara*

## Índice de contenidos

<b>Portada</b> .....	<b>i</b>
<b>Certificación</b> .....	<b>ii</b>
<b>Autoría</b> .....	<b>iii</b>
<b>Carta de autorización</b> .....	<b>iv</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>v</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>vi</b>
<b>Índice de contenidos</b> .....	<b>vii</b>
<b>Índice de tablas</b> .....	<b>ix</b>
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>x</b>
<b>Índice de anexos</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. Título</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Resumen</b> .....	<b>2</b>
2.1 Abstract .....	3
<b>3. Introducción</b> .....	<b>4</b>
<b>4. Marco teórico</b> .....	<b>6</b>
4.1 Inocuidad Alimentaria.....	6
4.1.1 <i>Calidad de la leche cruda</i> .....	7
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
4.2.1 <i>Generalidades</i> .....	7
4.2.2 <i>Propiedades bioquímicas</i> .....	8
4.2.3 <i>Toxinas patógenas que producen intoxicación alimentaria</i> .....	8
4.3 <i>Escherichia coli</i> .....	9
4.3.1 <i>Generalidades</i> .....	9
4.3.2 <i>Propiedades bioquímicas</i> .....	9
4.3.3 <i>Patogenia de Escherichia coli</i> .....	9
4.4 Enfermedades transmitidas por alimentos ETAs.....	10
4.5 Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN).....	11
4.5.1 <i>Residuos de Medicamentos Veterinarios en la leche cruda</i> .....	11
4.6 Resistencia Antimicrobiana.....	12
<b>5. Material y Métodos</b> .....	<b>14</b>
5.1 Área de Estudio.....	14
5.2 Procedimiento.....	14
5.2.1 <i>Enfoque Metodológico</i> .....	14

5.2.2	<i>Diseño de la Investigación</i> .....	14
5.2.3	<i>Tamaño de la muestra y Tipo de Muestreo</i> .....	15
5.2.4	<i>Variables de estudio</i> .....	15
5.2.5	<i>Métodos y Técnicas</i> .....	15
5.2.6	<i>Procesamiento y análisis de la información</i> .....	17
<b>6.</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>18</b>
6.1	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
6.1.1	<i>Resistencia Antimicrobiana</i> .....	19
6.1.2	<i>Resultados de Antibiograma</i> .....	19
6.2	Identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	20
6.2.1	<i>Resistencia Antimicrobiana</i> .....	22
6.2.2	<i>Resultados de Antibiograma</i> .....	23
6.3	Presencia de las bacterias en relación al lugar de expendio.....	24
<b>7.</b>	<b>Discusión</b> .....	<b>25</b>
<b>8.</b>	<b>Conclusiones</b> .....	<b>30</b>
<b>9.</b>	<b>Recomendaciones</b> .....	<b>31</b>
<b>10.</b>	<b>Bibliografía</b> .....	<b>32</b>
<b>11.</b>	<b>Anexos</b> .....	<b>39</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b>	Microorganismos patógenos presentes en la leche cruda.....	7
<b>Tabla 2.</b>	Toxinas patógenas producidas por <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
<b>Tabla 3.</b>	Cepas patógenas de <i>Escherichia coli</i> .....	10
<b>Tabla 4.</b>	Requisitos microbiológicos para la leche cruda.....	11
<b>Tabla 5.</b>	Número de muestras de los diferentes mercados de la Ciudad de Loja.....	15
<b>Tabla 6.</b>	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> en diferentes medios de cultivo.....	16
<b>Tabla 7.</b>	Identificación de <i>Escherichia coli</i> en diferentes medios de cultivo.....	17
<b>Tabla 8.</b>	Pruebas bioquímicas para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>Tabla 9.</b>	Presencia de bacterias sospechosas de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
<b>Tabla 10.</b>	Resultados del Antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
<b>Tabla 11.</b>	Pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> .....	21
<b>Tabla 12.</b>	Presencia de bacterias sospechosas de <i>Escherichia coli</i> .....	22
<b>Tabla 13.</b>	Porcentaje de presencia de <i>Escherichia coli</i> en muestras de leche cruda.....	22
<b>Tabla 14.</b>	Resultados del Antibiograma de <i>Escherichi coli</i> .....	23
<b>Tabla 15.</b>	Presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> en el lugar de expendio...24	

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Mercados municipales muestreados en la ciudad de Loja.....	14
<b>Figura 2.</b> Porcentaje de crecimiento bacteriano en placa de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>Figura 3.</b> Pruebas bioquímicas para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de resistencia antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
<b>Figura 5.</b> Porcentaje de crecimiento bacteriano en placa de <i>Escherichia coli</i> .....	21
<b>Figura 6.</b> Pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> .....	21
<b>Figura 7.</b> Porcentaje de resistencia antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> .....	23

## Índice de anexos

<b>Anexo 1.</b>	Diagrama de flujo para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
<b>Anexo 2.</b>	Diagrama de flujo de pruebas bioquímicas para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
<b>Anexo 3.</b>	Diagrama de flujo para <i>Escherichia coli</i> .....	40
<b>Anexo 4.</b>	Diagrama de flujo de pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> .....	41
<b>Anexo 5.</b>	Diagrama de flujo para la elaboración de Antibiograma.....	41
<b>Anexo 6.</b>	Diagrama de flujo para la elaboración de Tinción Gram.....	42
<b>Anexo 7.</b>	Tinción Gram de placas sospechosas.....	42
<b>Anexo 8.</b>	Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Anexo 9.</b>	Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	44
<b>Anexo 10.</b>	Crecimiento bacteriano en medios de cultivo .....	45
<b>Anexo 11.</b>	Realización de pruebas bioquímicas .....	45
<b>Anexo 12.</b>	Cultivos puros con crecimiento bacteriano para <i>Escherichia coli</i> .....	46
<b>Anexo 13.</b>	Cultivos puros con crecimiento bacteriano para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	46
<b>Anexo 14.</b>	Ajuste de inóculo en espectrofotómetro .....	46
<b>Anexo 15.</b>	Realización de Antibiograma.....	47
<b>Anexo 16.</b>	Certificado de Inglés .....	48

## **1. Título**

Evaluación de la Resistencia Antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas en leche cruda comercializada en mercados de la ciudad de Loja

## 2. Resumen

La leche es el alimento más completo y consumido a nivel mundial, por lo que cumple un rol significativo en la dieta de las personas. En el Ecuador, alrededor del 60% de la comercialización de leche cruda es de tipo informal y no siempre está sujeta a un correcto control y manejo que garantice la calidad e inocuidad, ya que la leche es un producto que se contamina fácilmente a nivel microbiológico y químico provocado por el abuso indiscriminado de antibióticos, dejando residuos en este alimento ocasionando problemas a nivel de la salud pública, y es por esta razón que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* expendida en los mercados de la Ciudad de Loja en donde se analizaron 24 muestras de leche cruda. En donde se obtuvo una presencia de 16.67% para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, además se pudo identificar otras especies mediante pruebas bioquímicas tales como *Shigella* spp., *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp. Se evaluó la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, obteniendo una resistencia mayor del 100% a betalactámicos y cefalosporinas, 75% a tetraciclina y 50% a fluoroquinolonas por tanto se recomienda efectuar más estudios para evaluar donde existe más factores de contaminación y realizar un control de residuos de antibióticos presentes en la leche cruda que se expende al público.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Resistencia Antimicrobiana, Leche cruda, Antibiograma

## 2.1 Abstract

Milk is the most complete and consumed food worldwide, so it plays a significant role in people's diets. In Ecuador, about 60% of raw milk marketing is informal and is not always subject to proper control and management to ensure quality and safety since milk is a product easily contaminated at the microbiological and chemical level caused by the indiscriminate abuse of antibiotics. For this reason, the scope of this study was to evaluate the antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* sold in the markets of the city of Loja, where we analyzed 24 samples of raw milk 16.67% presence of *Escherichia coli*, we obtained *Staphylococcus aureus*, and we identified other species such as *Shigella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella* spp. by biochemical tests. We evaluated the antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, obtaining a greater than 100% resistance to beta-lactams and cephalosporins, 75% to tetracycline, and 50% to fluoroquinolones. Therefore, we recommend conducting further studies to evaluate where there are more contamination factors and to control antibiotic residues present in raw milk sold to the public.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, raw milk, antibiogram

### 3. Introducción

Para los seres humanos la leche y sus derivados son fundamentales para la salud y nutrición, es por esto que la leche cruda es uno de los alimentos más completos debido a una rica composición en proteínas, ácidos grasos, inmunoglobulinas y micronutrientes, por lo que también es un excelente medio para el crecimiento y propagación de microorganismos, siendo necesario tomar medidas de seguridad y control para obtener un producto que cumpla con parámetros de calidad e inocuidad apto para el consumo (Nero *et al.*, 2019); (FAO, 2021).

Considerando que la calidad e inocuidad de los alimentos que llegan al consumidor es importante y más aún de alimentos primordiales como la leche y sus subproductos que al ser muy susceptibles a la contaminación, es posible que no estén exentos de contaminantes microbiológicos y químicos como residuos de antibióticos. (Sah *et al.*, 2018).

El género *Escherichia coli* es una bacteria presente en el intestino de personas y animales, productora de toxina Shiga la cual puede causar enfermedades por el consumo de productos contaminados con materia fecal. Por otro lado, las bacterias de la especie *Staphylococcus aureus* forman parte de nuestra microbiota cutánea por lo que se la asocia a la contaminación por manipulación (OMS, 2021).

Si hablamos de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) en el Ecuador durante el año 2020 se presentaron 5890 casos reportados por intoxicaciones alimentarias bacterianas, infecciones y toxiinfecciones provocadas por alimentos como la leche cruda sin tratar. *Escherichia coli* entero hemorrágica se asocia con el consumo de leche no pasteurizada (OMS, 2019).

La pasteurización es un proceso importante ya que su objetivo es destruir los microorganismos patógenos que se encuentran en la leche cruda causantes de enfermedades por alimentos (ETAs). Además, reduce la flora asociada, por lo cual alarga la vida útil del producto sin alterar la composición química y sus características organolépticas (Guaraca *et al.*, 2019).

Por otra parte, Ecuador se enfrenta a una gran problemática por el uso indiscriminado de antibióticos en las ganaderías, la OMS ha declarado la resistencia antibacteriana como emergencia mundial siendo una de las 10 principales amenazas de salud pública. En animales de producción el uso indiscriminado de antibióticos ha crecido drásticamente, provocando multiresistencia bacteriana por la mutación genética de las mismas para resistir al efecto de los antibióticos en animales de producción, razón por la cual es un peligro para las personas que consumen alimentos provenientes de animales, causando así varias enfermedades difíciles de tratar (Guamán *et al.*, 2020).

Es imprescindible notar que los ganaderos utilizan grandes cantidades de antibióticos para tratar enfermedades infecciosas como lo es la mastitis causada por *Staphylococcus aureus*, tomando en cuenta principalmente que los antibióticos empleados no son recetados por un médico veterinario, por lo que se utilizan empíricamente provocando graves perjuicios sanitarios tanto para el animal como para los humanos, ya que la resistencia a los antibióticos cada día va aumentando y propagándose por todo el mundo siendo algo muy peligroso. Cada día aparecen nuevos mecanismos de resistencia que llegan a impedir el poder tratar las enfermedades infecciosas. La mayoría de los estudios demuestran que para controlar la mastitis bovina utilizan Betalactámicos, Sulfonamidas y Amino glucósidos, de estos grupos de antibióticos se ha encontrado residuos de antibióticos en leche cruda. (Murillo *et al.*, 2022).

Varios estudios realizados a nivel nacional e internacional han reportado la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en leche cruda como el de (Cárdenas *et al.*, 2018; Alarcón, 2018; Eliazar 2022; Lopez 2022). Sin embargo, en la provincia de Loja no existen estudios relacionados a la problemática de la resistencia antimicrobiana en leche cruda bovina.

¿Por todo esto, se planteó como objetivo general determinar si “existe la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en leche cruda comercializada en mercados de la ciudad de Loja y si presentan resistencia antimicrobiana?”

## 4. Marco Teórico

### 4.1 Inocuidad Alimentaria

La inocuidad alimentaria hace relación a los peligros físicos, químicos y microbiológicos que están presentes en el consumo de alimentos ya que pueden poseer microorganismos patógenos transmisibles al hombre produciendo riesgos en la salud con síntomas como vómito, dolor abdominal, diarrea, fiebre, calambres o dolor corporal, por lo que se debe informar a los productores con el fin de que se disminuya el riesgo de infecciones transmitidas por alimentos. Rara vez se puede presentar insuficiencia renal por causa de *Escherichia coli* (López, 2022).

Los requerimientos de la leche y sus derivados deben ser libres de residuos inhibidores como son los antibióticos, debido a que si se encuentran en cantidades mínimas ya representa un problema de salud pública por lo que no debe ser aceptado, además debe ser ilegal expender estos productos (Díaz, 2016).

La leche cruda es un alimento producido por las glándulas mamarias de la vaca que no se ha sometido a ningún tipo de tratamiento térmico, es decir que la temperatura de la misma no ha superado a la de la leche que es extraída inmediatamente de la ubre de la vaca (no supera los 40 °C), la leche cruda no es apta para consumir (INEN 9, 2015).

La leche se caracteriza por ser una fuente de proteínas importantes por su alto valor nutritivo para los seres humanos, sin embargo, debido a su composición es un medio ideal para que se puedan desarrollar fácilmente microorganismos patógenos. También hay riesgos de contaminación y proliferación de patógenos endógenos en el ordeño, al momento de almacenar, transportar o por contacto con el hombre o el medio ambiente. Así como también puede estar contaminada con residuos de antibióticos, plaguicidas o algún tipo de contaminante químico (INEN 9, 2015).

Dentro de algunas de las enfermedades de las que puede estar expuesta el ganado lechero es la mastitis ambiental, las puntas de los pezones se pueden contaminar con microorganismos patógenos que se encuentran en el ambiente en donde pasa el ganado como los corrales, pasto, lugar de ordeño, etc. Estos microorganismos sobreviven y se multiplican generando mayor contaminación. Generalmente en una mastitis encontramos involucrados géneros como bacterias coliformes, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. Es por esto que la leche producto del ordeño de vacas con mastitis se convierte en una amenaza para la seguridad e inocuidad alimentaria (Babalola, 2021).

La microbiota que se encuentra presente en la leche cruda son bacterias heterótrofas, que son la mayoría de las bacterias patógenas que causan diferentes tipos de infecciones en el

ganado, así como también infecciones e intoxicaciones en humanos que consumen leche cruda sin ningún tratamiento. Del mismo modo, en la composición de la leche hay una porción de microorganismos probióticos de los cuales se ha comprobado que son beneficiosos para la salud de quien la consume (Guarín *et al.*,2020; Reuben *et al.*, 2020).

#### 4.1.1 Calidad de la leche cruda

La calidad de la leche se define en un conjunto de propiedades que alteran directa o indirectamente el grado de aceptación, seguridad y demanda de este producto. Los parámetros utilizados para determinar que la leche sea de calidad es que previo a la industrialización se evalúa mediante análisis físicos-químicos y microbiológicos. Estos parámetros se rigen mediante normativas para procesos de recolección, transporte y análisis con algunas variaciones de los límites de cumplimiento y los métodos que se emplean (Sah *et al.*, 2018).

Entre las bacterias que más afectan al organismo del hombre por consumir leche cruda son:

**Tabla 1.** *Microorganismos patógenos presentes en la leche cruda*

Microorganismos	Síntomas	Período
<i>Staphylococcus aureus</i>	Produce diarrea, náuseas, vómito y calambres abdominales.	Los síntomas suelen aparecer de 1 a 6 horas después de haber consumido el alimento contaminado.
<i>Escherichia coli</i>	Produce diarrea con o sin sangre, dolor abdominal y calambres.	Los síntomas suelen aparecer de 2 hasta 5 días después de haber consumido leche cruda contaminada.

## 4.2 *Staphylococcus aureus*

### 4.2.1 Generalidades

Especie perteneciente al género *Staphylococcus*, posee poderosas enzimas como son la coagulasa y catalasa que ayudan a proteger y combatir contra el sistema inmune. Contiene toxinas como la enterotoxina, es termoestable por lo que es difícil destruirla por cocción. Por otro lado, se ha demostrado que la toxina A produce con mayor frecuencia intoxicación alimentaria (Cervantes, 2014).

#### 4.2.2 Propiedades bioquímicas

Es un coco Gram positivo, anaerobia facultativa que se llega a agrupar en racimos para dividirse en diferentes planos, no es móvil ni esporulado y es productora de catalasa, coagulasa y desoxirribonucleasa positiva. La temperatura ideal para su crecimiento está dentro del rango de 7 a 48°C siendo ideal 37° C. Es un microorganismo que produce exotoxinas que se pueden producir en el alimento y permanecer aun cuando se haya realizado algún tratamiento térmico ya que son toxinas resistentes al calor (Galli *et al.*, 2019).

#### 4.2.3 Toxinas patógenas que producen intoxicación alimentaria

Produce cinco toxinas que pueden llegar a provocar intoxicaciones en el ser humano. Esta bacteria se caracteriza por generar infecciones en los tejidos blandos y grasos, vasos sanguíneos y en la piel, ha sido también muy relevante en enfermedades transmitidas por alimentos contaminados (ETAs) (Pasachova *et al.*, 2019). La determinación de este microorganismo indica una escasa desinfección durante la manipulación de los alimentos o por no realizar un proceso de tratamiento adecuado (Ramírez *et al.*, 2020)

**Tabla 2.** Toxinas patógenas producidas por *Staphylococcus aureus*

Toxina	Síntomas
Toxina del shock tóxico estafilocócico (TSST-1)	Fiebre, escalofríos, dolores musculares, náuseas y vómitos, falla renal. Síndrome del shock tóxico.
Toxina exfoliativa (ETA y ETB)	Diarrea, muerte de enterocitos, fiebre, eritema, dolor muscular
Leucocidina	Destruyen leucocitos
<b>Enterotoxinas estafilocócicas (SE) Asociadas a intoxicaciones alimentarias</b>	
<b>Enterotoxina A</b>	Se asocia mayormente a intoxicaciones alimentarias.
<b>Enterotoxina B</b>	Colitis pseudomembranosa, infecciones.
<b>Enterotoxina C</b>	Asociada principalmente a alimentos como lácteos contaminados.
<b>Enterotoxina D</b>	Asociada masivamente a intoxicaciones por lácteos contaminados.

**Nota:** Adaptado de Galli *et al.*, (2019).

### **4.3 *Escherichia coli***

#### **4.3.1 Generalidades**

Es una bacteriana que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de los animales y personas.

La mayoría de bacterias del género *Escherichia coli* se encuentran naturalmente en los intestinos, cumplen el papel de ayudar a nuestro cuerpo a digerir los alimentos. Sin embargo, existen algunos tipos de *Escherichia coli* que pueden provocar diarrea y otras enfermedades cuando son ingeridas por alimentos contaminados (Rodríguez, 2022).

#### **4.3.2 Propiedades bioquímicas**

Enterobacteria que se encuentra en el intestino del ser humanos y animales de sangre caliente, patógeno representativo de infecciones como la mastitis en bovinos, se caracterizada por ser un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo que no esporula, movilidad por medio de flagelos, no forma esporas y produce indol mediante triptófano, no utiliza citrato como fuente de carbono y no produce acetoina.

Así como también fermenta la glucosa y lactosa con la producción de gas. Se desarrolla fácilmente a temperaturas de 6 a 50°C (Investigación, 2022).

#### **4.3.3 Patogenia de *Escherichia coli***

Se asocian 6 patotipos con infecciones gastrointestinales que han sido clasificados según su patogenicidad, presentación clínica y epidemiología, siendo uno de ellos *Escherichia coli* perteneciente a la categoría productora de toxina Shiga (STEC), la cual se encuentra en el intestino del animal y llega a la superficie de la leche por contaminación con las heces fecales, por manipulación posterior al ordeño (Brusa *et al.*, 2019)

Estas cepas son patógenos considerados por ser transmitidos por alimentos que llegan a causar enfermedades severas en el ser humano como es la colitis hemorrágica (Brusa *et al.*, 2019).

**Tabla 3.** Cepas patógenas de *Escherichia coli*

<b>Especies Patógenas</b>	<b>Lugar de Acción</b>	<b>Síntomas</b>
Enteropatógeno (EPEC)	Int. Delgado	Diarrea con sangre, calambres abdominales, vómito y fiebre
Enteroinvasiva (EIEC)	Int. Grueso	Disentería tipo shigelosis ocasionando diarrea mucoide sanguinolenta.
Enterohemorrágica (EHEC)	Int. Grueso	Diarrea hemorrágica intensa y síndrome urémico hemorrágico.
Enteroagresiva (EAEC)	Int. Delgado	Diarrea infantil con moco y sangre (dura más de 14 días)
Enterotoxigénica (ETEC)	Int. Delgado	Conocida como diarrea de viajero se presenta con vómito, diarrea acuosa, espasmos abdominales, náuseas y febrícula (dura de 4 a 5 días)

*Nota:* Adaptado de Rodríguez, (2022)

#### **4.4 Enfermedades transmitidas por alimentos ETAs**

Las enfermedades transmitidas por alimentos por lo general son de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus o parásitos que llegan al organismo por el consumo de agua o alimentos, provocando algunas dolencias constituyendo un problema de salud pública.

En el Ecuador según cifras publicadas por el Ministerio de Salud Pública (MSP), hasta el año 2021 se han reportado 5,802 casos de intoxicaciones alimentarias con la aparición de síntomas gastrointestinales, siendo la provincia del Oro con mayores casos reportados de un total de 1,275 (MSP, 2021).

Las ETA son producidas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos o gran cantidad de sustancias que son nocivas para afectar en la salud de los seres humanos afectando a la inocuidad y seguridad alimentaria.

Son un gran problema para la salud pública y existen más de 250 enfermedades que son transmitidas por alimentos incrementando con nuevas formas de contaminación, poblaciones vulnerables o por el incremento de la resistencia bacteriana (Lampert *et al.*, 2022; Palomino *et al.*, 2018).

Las ETAs son ocasionadas por diversos factores como son la inadecuada conservación y mala manipulación, los alimentos que son sometidos a una intensa manipulación durante el proceso de preparación y que tienen una temperatura por encima de 7.2°C y por debajo de 60°C después de haberlos preparado, son los que más producen intoxicación estafilocócica (Alarcón *et al.*, 2017).

#### 4.5 Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN)

El INEN es el sistema ecuatoriano que tiene el objetivo de formular normas técnicas que definan las características de materiales y la calidad de los productos, con el fin de garantizar que los productos que se comercializan en el país sean seguros para el consumidor.

Según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 9:2015 Sexta revisión, establece los requisitos que se aplica únicamente a la leche cruda de vaca destinada al procesamiento.

Se entiende como definición de leche cruda aquella que no ha pasado por un tratamiento térmico, excepto el de enfriamiento para conservarla, ni que ha tenido ninguna modificación en su composición.

**Tabla 4.** Requisitos microbiológicos otorgados para la leche cruda

Microorganismo	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	Método de ensayo
<i>Escherichia coli</i>	5	3	1,0x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-5
Enterobacteriaceae (UFC/g)	5	1	10	10 <sup>2</sup>	NTE INEN-ISO 21528-2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10	10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-14

*n*= número de muestras para analizar

*m*= límite de aceptación

*M*= límite superando el cual se rechaza

*c*= número máximo de muestras admitidas con resultados entre *m* y *M*.

**Nota:** Adaptado de Normativa del Instituto Ecuatoriano de Normalización NTE INEN 9, 2015.

##### 4.5.1 Residuos de Medicamentos Veterinarios en la leche cruda

El problema de la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda se debe a la inadecuada elección, uso excesivo e irracional de los antibióticos para tratar enfermedades

como la mastitis, incumpliendo con el tiempo de retiro de los fármacos por parte del productor ganadero, no descartar leche de vacas que han sido tratadas, administración de medicamentos de uso humano para tratar animales y falta de supervisión de un médico veterinario, entre otros factores como el deficiente o inexistente control a nivel de los puestos comerciales que expenden la leche cruda (Aroca, 2016).

Por lo tanto, esto genera consecuencias que van desde efectos adversos por presencia de residuos de antibióticos en alimentos, aumento de la resistencia bacteriana, toxicidad en órganos importantes como hígado y riñones y provocar a nivel digestivo reacciones adversas como, irritación, diarrea, dolor abdominal y epigástrico. La gran parte de estos antibióticos se quedan en diferentes órganos y tejidos de animales que han sido tratados, lo cual conlleva a un alto riesgo para la salud de personas que consumen un producto de estos animales (Villa *et al.*, 2017).

En Ecuador se realizaron 81 operativos donde se controló 948.253 litros de leche cruda y se decomisaron a vendedores 57.537 por presencia de antibióticos, considerados no aptos para el consumo humano, se efectuaron en 8 provincias según la agencia de Agrocalidad en conjunto con el Ministerio de Agricultura y Ganadería, Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria y el Servicio de Rentas Internas (MAG, 2020).

#### **4.6 Resistencia Antimicrobiana**

La resistencia a los antibióticos corresponde a un gran problema que preocupa a nivel mundial, ya que a diario están apareciendo y dispersándose a nivel mundial nuevos mecanismos de resistencia antimicrobiana que son un peligro ya que es más difícil tratar infecciones comunes o elegir los antibióticos para un tratamiento cada vez es más limitado. Incluso se puede presentar efectos negativos como una disbacteriosis, disminución de síntesis de vitaminas, desarrollo de microorganismos patógenos y alteración completa de la flora intestinal (Murillo *et al.*, 2022).

La resistencia bacteriana se presenta como una consecuencia del uso indiscriminado de los antimicrobianos. Este fenómeno va aumentando ya que cada vez es más difícil controlar por parte de los antibióticos existentes ya que las bacterias han desarrollado nuevos mecanismos lo cual repercute en implicaciones sociales y económicas debido a que han aumentado los niveles de morbilidad y mortalidad, incrementando incluso los costos del tratamiento (Murillo *et al.*, 2022).

Una bacteria es sensible frente a un antibiótico cuando el medicamento es eficaz en ella y la infección que presenta desaparece por la muerte o inactivación del microorganismo y se considerado como un agente resistente cuando su crecimiento se inhibe al existir concentraciones superiores a las que el medicamento puede llegar alcanzar en el lugar de la infección. Por la presión selectiva de los antibióticos las cepas que son resistentes se hacen predominantes, haciendo que desaparezcan las bacterias sensibles, lo cual no sólo se presenta en los antibióticos administrados en medicina humana sino también en aquellos medicamentos que son utilizados en medicina veterinaria (Pérez, 2020).

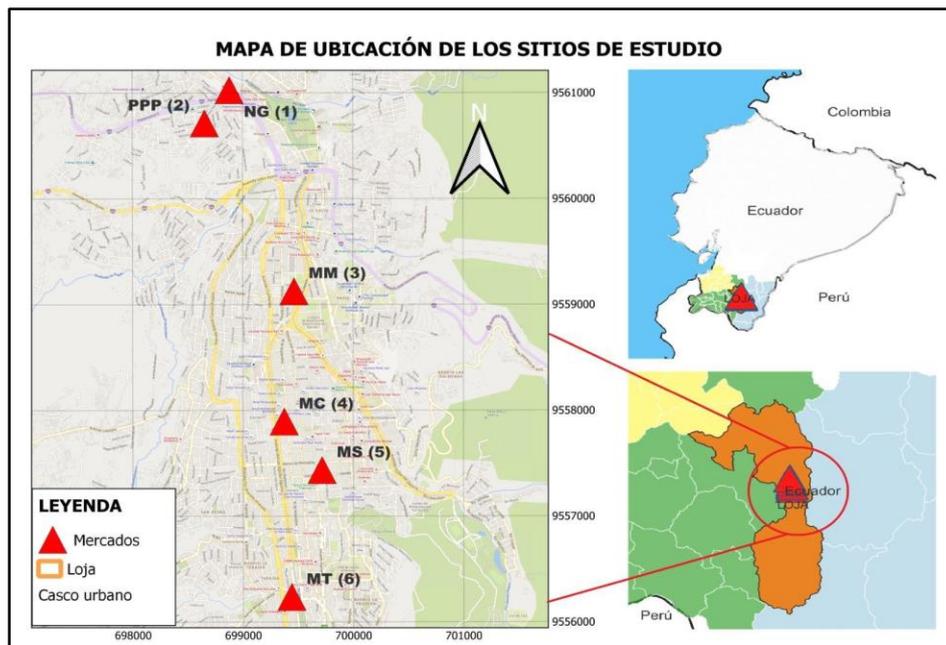
De acuerdo a las normativas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN 9, 2012), la leche cruda que no ha sido sometida a un proceso de pasteurización y que es destinada para el consumo humano, no debe contener residuos de medicamentos veterinarios en cantidades superiores establecidos por el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2.

## 5. Material y Métodos

### 5.1 Área de estudio

La presente investigación se realizó en los mercados de la ciudad Loja que se encuentra a una altitud de 2.100 m.s.n.m asentada en el valle de Cuxibamba, con coordenadas de latitud:  $-3.98333$ , Longitud:  $-79.23^{\circ}58'60''$  Sur,  $79^{\circ}12'0''$  Oeste. Las temperaturas fluctúan entre  $16^{\circ}$  C y  $21^{\circ}$  C, con una temperatura diaria promedio de  $17^{\circ}$  C.

El estudio tuvo un período de duración de 4 meses y se dividió en tres fases: la primera fase fue la observación de las zonas a muestrear, segunda fase trabajo de campo para toma y transporte de muestras; y la tercera fase fue el análisis de muestras en el laboratorio.



*Figura 1. Ubicación geográfica de los mercados municipales muestreados en la ciudad de Loja.*

### 5.2 Procedimiento

#### 5.2.1 Enfoque Metodológico

El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo debido a que la recolección de datos se centra más en resultados estadísticos y numéricos.

#### 5.2.2 Diseño de la Investigación

En esta investigación se empleó un enfoque observacional y de corte transversal descriptivo, donde se realizó un análisis u observación previa para determinar el número de

puestos de expendio de leche cruda de los cuales se obtuvo 24 muestras correspondientes a la totalidad de los puestos ubicados en los diferentes mercados de la Ciudad de Loja.

### 5.2.3 Tamaño de la muestra y Tipo de Muestreo

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia en 24 sitios de expendio de leche cruda en 6 mercados de la ciudad de Loja. Obteniendo un total de 24 muestras (Tabla 5).

**Tabla 5.** Número de muestras de los diferentes mercados de la Ciudad de Loja

Mercados	Muestras
PPP	2
NG	2
MM	6
MC	7
MS	5
MT	2
<b>Total</b>	<b>24</b>

### 5.2.4 Variables de estudio

- Presencia o ausencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*
- Resistencia Antimicrobiana

### 5.2.5 Métodos y Técnicas

- **Muestreo:** La toma de muestras se hizo de acuerdo a los protocolos de las normas INEN 4. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Diagnostico Veterinario de la Universidad Nacional en su propio envase comercial para evitar la contaminación, fueron transportadas en un cooler con gel refrigerante a una temperatura no menor de 0°C ni mayor de 10°C, hasta el momento del análisis de las mismas.
- **Trabajo de campo en laboratorio:** El análisis de laboratorio se realizó mediante diagramas de flujo en base a lo que dicta la normativa del país (INEN) correspondiente para *Escherichia coli* (Anexo 5) y *Staphylococcus aureus* (Anexo 3).

### Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*

- **Suspensión inicial y diluciones:** Agregamos 90 mL del diluyente agua peptonada al 0.01% y 10 ml de leche cruda en una bolsa ziploc estéril, mezclando correctamente. Obteniendo la primera dilución (10-1) consecutivamente hasta llegar a la dilución ( $10^{-5}$ )
- **Siembra en placa de medios de cultivo selectivos:** Se sembró en placa la dilución ( $10^{-5}$ ) por medio de agotamiento de estriado sobre agar Sal Manitol y Baird Parker, invertimos las placas e incubamos a 37°C por 24 horas. Para la identificación de *Staphylococcus aureus* se basó de acuerdo a las características de las colonias en cada agar (Tabla 6).

**Tabla 6.** Identificación de *Staphylococcus aureus* en los diferentes medios de cultivo

<i>Staphylococcus aureus</i>	
Agares	Características de las colonias
Sal manitol	Colonias de color amarillo con un halo luminoso de color amarillo.
Baird Parker	Colonias que se caracterizan por tener una forma regular, de color amarillo rodeado o no de un halo amarillo.

- **Pruebas confirmatorias en agares diferenciales**

La identificación y confirmación de colonias de *Staphylococcus aureus* fue mediante la prueba de coagulasa donde se determinó positivos aquellos que formaron un coágulo después de la incubación (37° C), oxidasa por el cambio de coloración de la tirilla y catalasa positivo aquellos que tuvieron formación de burbujas al entrar en contacto con el peróxido de hidrógeno al 20%.

### Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*

- **Siembra en placa de medios de cultivo selectivos**

Se sembró en placa la dilución inicial por medio de agotamiento de estriado, invertimos las placas e incubamos a 37°C por 24 horas para observar si hubo crecimiento bacteriano. Para la identificación de *Escherichia coli* se basó de acuerdo a las características de las colonias en cada agar (Tabla 7).

**Tabla 7. Identificación de *Escherichia coli* en los diferentes medios de cultivo**

<i>Escherichia coli</i>	
Agares	Características de las colonias
Eosina Azul de Metileno	Colonias de color negro azulado con un brillo verde metálico.
MacConkey	Colonias de color rosa o rojo

- **Pruebas confirmatorias en agares diferenciales:** La identificación y confirmación de colonias de *Escherichia coli* fue mediante agar TSI, SIM, LIA, Citrato de Simmons y Voges Proskauer. Estos se dejaron incubar a 37°C por 24 horas.
- **Tinción Gram:** Una vez realizado el aislado bacteriano, se procedió a la tinción Gram, en el cual se realizó las tinciones por cada una de las placas seleccionadas de las cuales se realizó cultivos puros. Secamos la muestra y observamos en el microscopio a 100X con aceite de inmersión.
- **Antibiograma:** Para evaluar la resistencia antimicrobiana se realizó un antibiograma, en donde se seleccionó las colonias de los cultivos puros previamente identificadas para realizar un ajuste de inóculo al 0.5 en escala de McFarland, posteriormente se sembró en placas de Agar Mueller Hinton y se colocó discos de antibióticos seleccionados en base a una revisión bibliográfica de los más utilizados por productores ganaderos para el tratamiento de infecciones como la mastitis clínica. Finalizado este proceso, se midió el diámetro de los halos de inhibición con la ayuda de un pie de rey determinando si es sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) basándonos en el CLSI, (2022).

### **5.2.6 Procesamiento y análisis de la información**

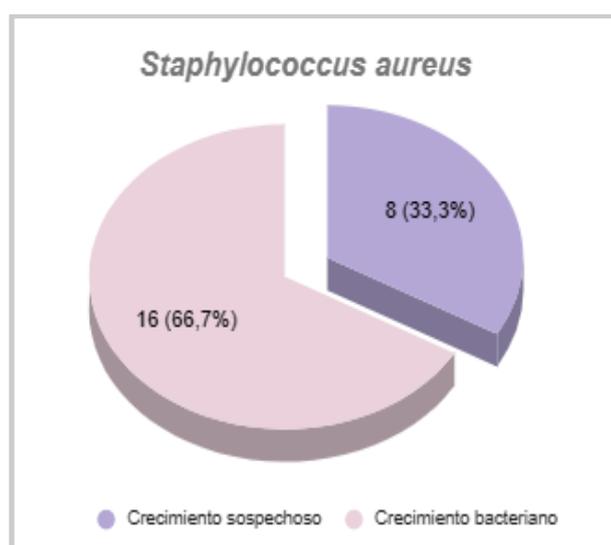
Se presentaron las variables de forma descriptiva, se usaron medidas de tendencia central y dispersión para las variables numéricas y frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas. Se empleó el programa Excel 2016 para tabular y procesar los datos del estudio.

## 6. Resultados

El presente trabajo de investigación se realizó en base a la toma de muestras de 6 mercados diferentes de la ciudad de Loja y se determinó los siguientes resultados:

### 6.1 Identificación de *Staphylococcus aureus*

Para *Staphylococcus aureus* se hizo un inóculo de 24 muestras donde se observó crecimiento bacteriano del 100% en todas las placas, de las cuales el 33.3% (8/24) fueron seleccionadas como sospechosas a confirmar en base a la caracterización macroscópica de los medios de cultivo empleados y las pruebas bioquímicas (Anexo 1).



**Figura 2.** Porcentaje de crecimiento bacteriano en placa

En la identificación de pruebas bioquímicas para *Staphylococcus aureus*, se consideraron positivas a las que presentaron en la lectura e interpretación características de catalasa positiva, coagulasa positiva y oxidasa negativa (Tabla 8).

**Tabla 8.** Pruebas bioquímicas para *Staphylococcus aureus*

Muestra	Catalasa	Coagulasa	Oxidasa
MT#23	(+)	(+)	(-)
MT#24	Formación de burbujas	Formación de un coágulo	No hay cambio de color
MC#15			
MM#7			

**Figura 3.** P. Bioquímicas A: Prueba de catalasa, B: prueba de oxidasa y C: prueba de coagulasa.

4 (16.67%) muestras fueron confirmadas como *Staphylococcus aureus*, lo cual denota que dos muestras son pertenecientes de un mismo mercados y las 4 (16.67%) muestras restantes de las placas sospechosas se lograron identificar como *Staphylococcus coagulasa* negativo (Anexo 8).

**Tabla 9.** Presencia de bacterias sospechosas de *Staphylococcus aureus*

Microorganismo	Muestras	%
<i>Staphylococcus aureus</i>		
Ausencia	20	83.33
Presencia	4	16.67
<b>Total</b>	24	100.00

De las 24 muestras analizadas se aisló un 16.67% (4/8) de *Staphylococcus aureus* y las 20 muestras restantes corresponden a la ausencia de la bacteria en un 83.33% (Tabla 9).

### 6.1.1 Resistencia Antimicrobiana

Se realizaron cultivos puros (Anexo 10) de las muestras identificadas como *Staphylococcus aureus*, posteriormente se realizó la prueba de antibiograma por el método de difusión de disco y de esta manera establecer si la bacteria presente en una determinada muestra de leche cruda es resistente o si sensible.

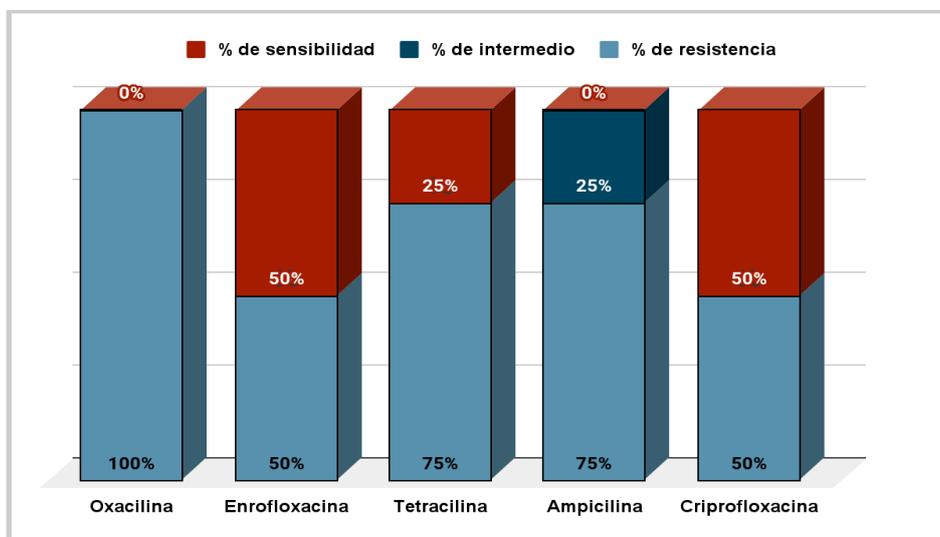
Los datos fueron comparados con los valores de referencia publicados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) correspondiente a cada bacteria.

### 6.1.2 Resultados de Antibiograma

Se realizó la selección de 5 antibióticos para la prueba de antibiograma, de la cual se obtuvo los siguientes resultados:

**Tabla 10. Resultados del Antibiograma para *Staphylococcus aureus***

Resistencia Antimicrobiana para <i>Staphylococcus aureus</i>							
Antibióticos	Valores de referencia			Muestras			
	R	I	S	MM#7	MC#15	MT#23	MT#24
Oxacilina (1 ug)	≤17	-	≥18	7 mm R	5 mm R	10 mm R	5 mm R
Enrofloxacin (5 ug)	≤16	17-22	≥23	12 mm R	10 mm R	45 mm S	40 mm S
Tetraciclina (30 ug)	≤11	12-14	≥15	0 mm R	0 mm R	30 mm S	10 mm R
Ampicilina (10 ug)	≤13	14-16	≥17	11 mm R	15 mm I	5 mm R	5 mm R
Ciprofloxacina (5 ug)	≤15	16-20	≥21	15 mm R	5 mm R	45 mm S	30 mm S



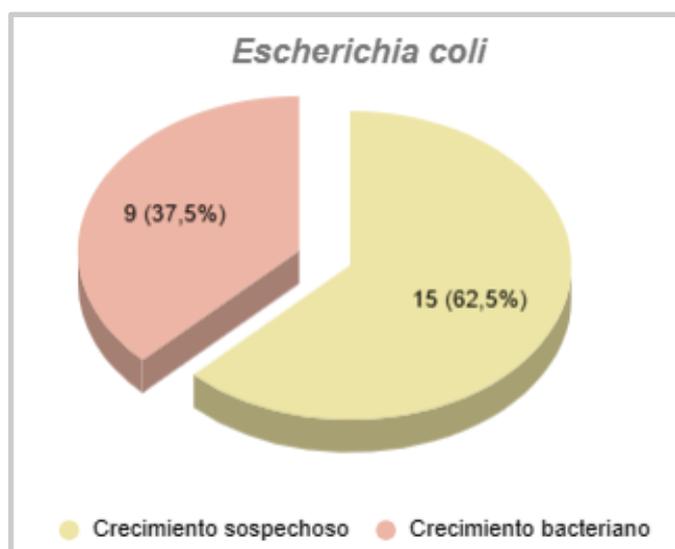
**Figura 4.** Porcentaje de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* frente a 5 antibióticos.

En la tabla 14 podemos observar que todas las muestras de *Staphylococcus aureus* presentaron resistencia a oxacilina 100%, tres muestras resistentes a tetraciclina y ampicilina 75% y dos muestras resistentes a enrofloxacin y ciprofloxacina 50%. Mientras que dos muestras fueron sensibles a enrofloxacin y ciprofloxacina 50%, una sola muestra sensible a tetraciclina 25% y una muestra intermedia a ampicilina 25%.

## 6.2. Identificación de *Escherichia coli*

Para *Escherichia coli* se realizó un inóculo de 24 muestras de las cuales se observó crecimiento bacteriano en todas las placas 100%, de las cuales el 62.5% (15/24) fueron

seleccionadas como sospechosas a confirmar en base a la caracterización macroscópica de los medios de cultivos empleados, y realizar pruebas bioquímicas (Anexo 9).

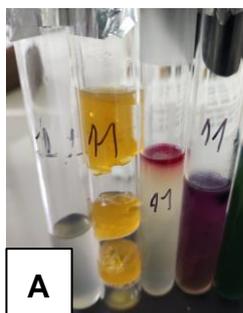


**Figura 5.** Porcentaje de crecimiento bacteriano en placa

En la identificación de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*, se consideraron positivas de acuerdo a la lectura e interpretación con las siguientes características de la (Tabla 11).

**Tabla 11.** Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*

Muestra	SIM	TSI	SC	VP	LIA
NG#2	(+) Mvd	A/A	(-) Crecimiento	(+) Rojo de metilo	(+) Descarboxilación de lisina/F
MC#11	(+) Indol	(+) P. Gas	Color del medio verde	(-) Prueba Voges Proskauer	(-) Desaminación de lisina/S
MC#12	(-) Sh2	(-) Sh2			(-) Sh2
MS#21					



**Figura 6. P. Bioquímicas A:** Prueba bioquímica en una muestra analizada

4 (16.67%) muestras de leche cruda analizadas, fueron confirmadas para *Escherichia coli*, de las cuales dos muestras resultaron ser de un mismo mercado (MC). (Tabla 15).

**Tabla 12.** Presencia de bacterias sospechosas de *Escherichia coli*.

Placas sospechosas		
<i>Escherichia coli</i>	4 muestras	<b>16.67%</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 muestras	20.83%
<i>Shigella</i> spp	4 muestras	16.67%
<i>Salmonella</i> spp	2 muestras	8.33%
<b>Total</b>	15 muestras	62.5%

11 (45.83%) muestras restantes de las placas sospechosas se realizaron pruebas bioquímicas y se identificaron otras especies de enterobacterias tales como *Shigella* spp 16.67% (4/11), *Klebsiella pneumoniae* 20.83% (5/11) y *Salmonella* spp 8.33% (2/11) (Anexo 9).

**Tabla 13.** Porcentaje de presencia de *Escherichia coli* en muestras de leche cruda.

Microorganismo	Muestras	%
<i>Escherichia coli</i>		
Ausencia	20	83.33
Presencia	4	16.67
<b>Total</b>	24	100.00

De las 24 muestras de leche cruda analizadas, se aisló un 16.67% (4/24) de *Escherichia coli* y las 20 muestras restantes corresponden a la ausencia de la bacteria en un 83.33% (Tabla 13).

### 6.2.1 Resistencia antimicrobiana

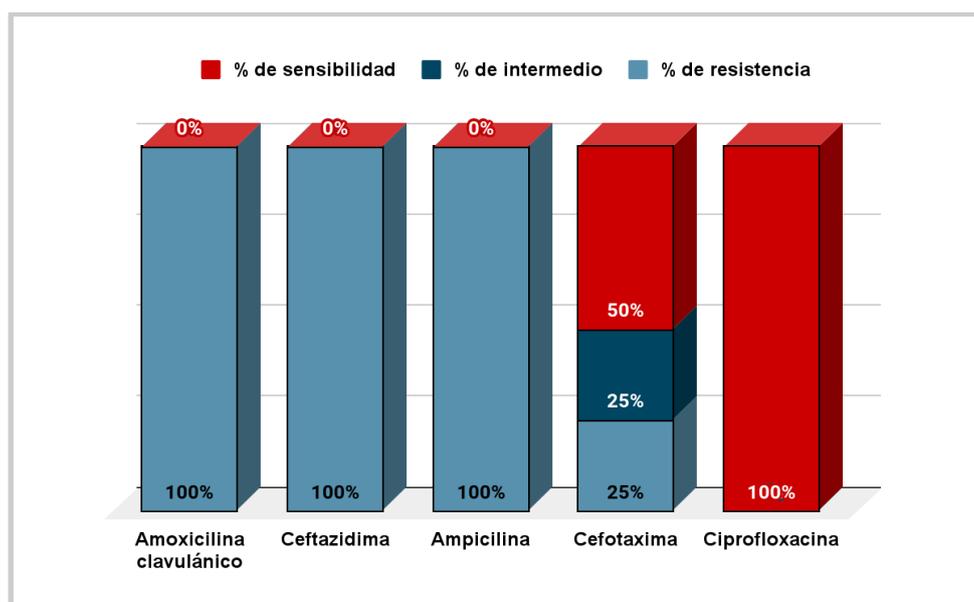
Se realizaron cultivos puros (Anexo 9) de las muestras identificadas como *Escherichia coli*, posteriormente se realizó la prueba de antibiograma por el método de difusión de disco y los datos fueron comparados con los valores de referencia publicados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) correspondiente a cada bacteria.

### 6.2.2 Resultados del Antibiograma

Se realizó la selección de 5 antibióticos para la prueba de antibiograma, de la cual se obtuvo los siguientes resultados:

**Tabla 14.** Resultados del Antibiograma de *Escherichia coli*.

Resistencia Antimicrobiana para <i>Escherichia coli</i>							
Antibióticos	Valores de referencia			Muestras			
	R	I	S	NG#2	MC#11	MC#12	MS#21
Amoxicilina clavulánico (20/10 ug)	≤17	14-17	≥18	5 mm R	10 mm R	12 mm R	12 mm R
Ceftazidima (30 ug)	≤16	18-20	≥21	5 mm R	7 mm R	0 mm R	8 mm R
Ampicilina (10 ug)	≤11	14-16	≥17	10 mm R	5 mm R	6 mm R	5 mm R
Cefotaxima (30 ug)	≤22	23-25	≥26	0 mm R	30 mm S	23 mm I	30 mm S
Ciprofloxacina (5 ug)	≤15	16-20	≥21	42 mm S	35 mm S	30 mm S	40 mm S



**Figura 7.** Porcentaje de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* frente a 5 antibióticos.

En la tabla 15 podemos observar que todas las muestras de *Escherichia coli* presentaron resistencia a amoxicilina clavulánico, ceftazidima, ampicilina 100% y una sola muestra resistente a cefotaxima 25%.

Mientras que todas las muestras fueron sensibles a ciprofloxacina 100%, dos muestras sensibles a cefotaxima 50% y una muestra intermedia a cefotaxima 25%.

### 6.3 Presencia y Ausencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en relación con el lugar de expendio (mercados) de la leche cruda.

Se puede observar en la tabla 13 la presencia de *Staphylococcus aureus* en la totalidad de las muestras del mercado MT y una sola muestra en los mercados MC y MM respectivamente. En cuanto a la presencia de *Escherichia coli* se pudo observar en una sola muestra de los mercados MS, NG y dos muestras del mercado MC.

**Tabla 15.** Evaluación de la presencia y ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Mercados	Muestras tomadas	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
		Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
MT	2	2	0	0	2
MS	4	0	5	1	4
MC	8	1	6	2	5
MM	6	1	5	0	6
NG	2	0	2	1	1
PPP	2	0	2	0	2
<b>Total</b>	24 muestras	4	20	4	20

Por lo cual se puede deducir que se observó la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus* en una muestra del mercado MC.

## 7. Discusión

En base a los resultados obtenidos en esta investigación del aislamiento de muestras de leche cruda se determinó que existe una presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* del 16.67% de la totalidad de las muestras analizadas correspondientes a cada bacteria. Otros estudios como el de Alarcón, (2018) en Imbabura, cantón Ibarra, evidenciaron la presencia de *Staphylococcus aureus* en un 11% de 134 muestras de leche cruda pertenecientes a la hacienda “La Verbena”.

Landi et al., (2018) realizó un estudio de calidad bacteriológica de la leche cruda almacenada en el centro de acopio Mocha, Tungurahua-Ecuador y obtuvo una presencia de *Staphylococcus aureus* de 83.3% de 18 muestras analizadas, De igual manera Trujillo, (2016) tomó 21 muestras del mercado Santa Rosa en Riobamba, evidenciando una presencia de *Staphylococcus aureus* de 28.57%

Sánchez et al., (2018) realizó una investigación en Tolima, Colombia donde se analizó 193 muestras de leche cruda, obteniendo un 31.1% positivos para *Staphylococcus aureus*. De igual manera Eliazar, (2022) de las 92 muestras de leche cruda tomadas en el distrito de Túpac Amaru- Perú de diferentes proveedores demostró que existió una presencia de *Staphylococcus aureus* en un 67% del total de las muestras.

La contaminación de la leche cruda puede darse en fincas lecheras, plantas procesadoras y centros de acopio donde se almacenan los productos antes de ser expendidos en los diferentes mercados del país, ya que no existe un correcto manejo de la leche cruda, equipos y agua contaminada o personal encargado del ordeño y comercialización de la leche, influyendo en su calidad y favorece el crecimiento de microorganismos como *Salmonella*, coliformes totales y *Staphylococcus aureus* encontrándose en el producto (Ramírez, 2020).

Según Valdivia et al., (2020), los resultados obtenidos en su estudio de las encuestas realizadas a ordeñadores de una granja en una empresa pecuaria matancera en Cuba demuestran factores que alteran la calidad higiénico sanitaria de la leche cruda, ya que el agua que utilizaban no era potable, no realizaban el sellado de los pezones, deficiente higiene y aseo de equipos de ordeño y personal, finalmente la presencia de infecciones como la mastitis la cual se evaluó con la prueba TRAM (tiempo de reducción del azul de metileno) indicando que la leche no contaba con una buena calidad microbiológica. Al igual que Alvarado et al., (2019) mostró que solo el 5% de 20 ganaderos encuestados sellaban los pezones, siendo esta técnica esencial para evitar infecciones como la mastitis.

Por lo que es importante mencionar también que la falta de higiene de la ubre es el factor principal que predispone a contraer infecciones como la mastitis subclínica, *Staphylococcus aureus* existe generalmente en el medio ambiente donde los animales pasan más tiempo, por lo que esta bacteria puede llegar directamente a la leche cruda a través de la ubre de un animal enfermo. (Ramírez, 2020).

Se logró la identificación de otras bacterias como *Klebsiella pneumoniae* la cual se ve involucrada en causar mastitis ambientales al igual que *Escherichia coli*, y también se observaron bacterias como *Shigella* spp. y *Salmonella* spp. La presencia de estas bacterias puede estar relacionado a la mala manipulación y adulteración de la leche debido a que son microorganismos asociados a la contaminación fecal ya que habitan normalmente en el tracto digestivo de los animales o se pueden encontrar en el suelo (Ramírez *et al.*, 2020); (Arteaga, 2017).

La presencia de *Escherichia coli* en muestras de leche cruda es un claro indicativo de suciedad sobre equipos mal saneados por parte del hombre, ya que este y los animales son un reservorio de manera natural por lo que se encuentra en la flora normal del tracto digestivo y la contaminación se da de manera oral-fecal (Trujillo, 2016). En Samborondón, Guayaquil se analizó 81 muestras de leche cruda, donde reportaron que existió una presencia de *Escherichia coli* en un 55.55% (Magallanes, 2018)

Bonifaz *et al.*, (2016), en la Comunidad de Paquiestancia, cantón Cayambe, identificó la presencia de *Escherichia coli* del 13% de 23 muestras de leche cruda tomadas a vacas con mastitis. Lopez *et al.*, (2019) realizó un estudio con 140 muestras de leche cruda de diferentes comités pertenecientes al programa “Vaso de Leche” en la ciudad de Chiclayo en Perú, en donde determina la presencia en un 39% y menciona que la relación del tiempo y temperatura de almacenamiento de la leche es un factor predisponente para el crecimiento de microorganismo patógenos, evidenciando que existe una deficiente refrigeración después del ordeño.

Por otra parte, Eliazar, (2022) en Perú identificó la presencia de *Escherichia coli* en un 26.09% en muestras de leche de 6 puestos diferentes. Abad, (2016) realizó un estudio microbiológico en 33 muestras de leche cruda tomadas en 7 puestos de venta en Riobamba, Ecuador, donde encontró una presencia de *Escherichia coli* 4.35%. También en un estudio realizado por Tyasningsih *et al.*, (2022) en Indonesia donde recolectó 250 muestras de leche

cruda de cinco granjas lecheras en la provincia Java Oriental, demostró la presencia de la bacteria en un 70,4% (176) de las muestras analizadas

En un estudio realizado por el MSP, (2021) demuestra que en el Ecuador durante el año 2021, las enfermedades transmitidas por el consumo de agua y alimentos (ETAs) que presentan mala manipulación, cocción y/o conservación alcanzan los 5,802 casos, siendo más común las intoxicaciones alimentarias seguido de hepatitis A, infecciones debidas a *Salmonella*, fiebre tifoidea y paratifoidea, shigelosis y cólera, en la ciudad de Loja se presentaron 328 casos de intoxicaciones alimentarias bacterianas.

El perfil de resistencia a los Antimicrobianos efectuados en esta investigación de las muestras de leche cruda demostró que *Staphylococcus aureus* tuvo una resistencia a oxacilina 100%, tetraciclina y ampicilina 75%, enrofloxacina y ciprofloxacina 50%, y resultaron ser sensibles a enrofloxacina y ciprofloxacina 50%, tetraciclina 25% e intermedio a ampicilina 25%.

Trujillo (2016) realizó pruebas de sensibilidad antimicrobiana a 21 muestras de leche cruda expendida en el mercado Santa Rosa y comprobó que las cepas de *Staphylococcus aureus* presentaron una resistencia a ampicilina en 47%. Mientras que Anangonó, (2020) presentó una resistencia en 125 muestras a ampicilina de 39.02% seguido de tetraciclina 21,95%, y fueron sensibles a ciprofloxacina en 97.56%, en el cantón Mejía.

Es importante mencionar que los betalactámicos son utilizados para el control de infecciones como la mastitis (Granizo, 2016). Y las fluoroquinolonas, son fármacos antibacterianos más utilizados en el tratamiento de infecciones urinarias por *Escherichia coli*.

En Perú Quispe et al., (2021) analizó 376 muestras de leche cruda para determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, reportando resistencia a penicilina 52% y amoxicilina clavulánico en 28% mientras que fue sensible a tetraciclina al 100%.

Para la tetraciclina también se reportan menores niveles de resistencia a antimicrobianos como el mostrado por Jiménez et al., (2020) en Tolima-Colombia donde analizó 101 cepas del género *Staphylococcus aureus* resistentes en un 18,5%. Por otro lado, Tyasningsih et al., (2022), demostró en su estudio realizado en Indonesia que las 148 cepas confirmadas de *Staphylococcus aureus* solo 70 (50,7%) de las muestras tuvieron mayor resistencia a tetraciclina y 38 (27,5%)

a oxacilina. La resistencia a la tetraciclina puede deberse a la utilización masiva de este antimicrobiano motivado por tener un costo asequible.

Mientras que para *Escherichia coli* se evidenció resistencia del 100% a amoxicilina clavulánico, ceftazidima y ampicilina y una resistencia del 25% a cefotaxima, tuvo una mayor sensibilidad a ciprofloxacina 100% y cefotaxima 50% e intermedio a la misma 25%. Bonifaz et al., (2016) determinó la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* en muestras de leche de vacas con mastitis en el Cantón Cayambe, obteniendo una resistencia a amoxicilina clavulánico de 35% y ampicilina 22%. Al igual que Llugín, (2017) en Riobamba, el cual reportó una resistencia a ampicilina en 40% y tetraciclina 100% de las muestras identificadas como *Escherichia coli* de 21 muestras de leche cruda de expendios del mercado “San Alfonso”.

En Riobamba se realizó un estudio de resistencia a antimicrobianos en muestras de leche cruda expandida en el mercado de santa rosa, y se comprobó que las cepas de *Escherichia coli* presentaron mayor resistencia a ampicilina en un 57%, mientras que fueron sensible a gentamicina y amoxicilina clavulánico en un 100% (Trujillo, 2016).

Cañizares, (2018) en el cantón Mejía se tomó 40 muestras en 8 plantas procesadoras y centros de acopio para comprobar la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda mediante el uso de tiras reactivas, se demostró un 15% de muestras positivas a una sola familia de antibióticos siendo esta los Betalactámicos. En otro estudio realizado por Aroca, (2016) detectó presencia de residuos de antibióticos a Betalactámicos 78,6% y Sulfonamidas 21,4% de 72 muestras de leche cruda de seis puestos de expendio en el Cantón Naranjal, Provincia del Guayas.

Debido a esto, Diaz et al., (2016) indica que la comercialización de leche cruda con residuos de antibióticos es ilegal y se ha convertido en un gran problema para la Salud Pública, ya que el uso indiscriminado de estos fármacos y el irrespeto a los tiempos de retiro es una de las causas potenciales de las altas cantidades de residuos de antibióticos en la leche.

En la resistencia antimicrobiana, la medición cuantitativa del consumo a nivel mundial de antimicrobianos en ganado bovino es importante, por lo que la OIE realizó una recopilación de datos de 103 países, registrando que en el año 2017 las tetraciclinas son los antimicrobianos más usados en un 33,9% debido a su fácil absorción, alta toxicidad selectiva y bajo costo; seguido de penicilina y macrólidos en un 10,6% (OIE, 2021).

Los residuos de antibióticos en la leche cruda son un problema para la salud pública ya que son capaces de producir toxicidad crónica, alergias y efectos carcinógenos. Los residuos de

antibióticos Betalactámicos pueden producir reacciones como erupciones maculopapulares, urticaria, fiebre, vasculitis, entre otras reacciones graves en personas hipersensibles, mientras que la leche cruda con residuos de tetraciclinas puede provocar reacciones adversas (Quispe *et al.*, 2021).

## 8. Conclusiones

- Se determinó la presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados de leche cruda comercializadas en los diferentes mercados de la ciudad de Loja.
- Se logró la identificación de otras bacterias como *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN), *Shigella* spp, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp.
- En base a la evaluación para la determinación de resistencia antimicrobiana se concluyó que la mayoría de las muestras de *Staphylococcus aureus* presentó mayor resistencia a oxacilina, tetraciclina, ampicilina, enrofloxacina y ciprofloxacina. Destacando antibióticos pertenecientes a betalactámicos, tetraciclinas y fluoroquinolonas.
- Las cepas de *Escherichia coli* mostraron mayor resistencia a amoxicilina clavulánico, ceftazidima y ampicilina. Por lo que muestra claramente que destacan antibióticos derivados de betalactámicos y cefalosporinas, usados frecuentemente de manera inadecuada por parte de los productores ganaderos para prevenir o tratar infecciones como la mastitis que afectan al ganado bovino.

## **9. Recomendaciones**

- Realizar investigaciones en cuanto al análisis microbiológico de la leche cruda en todas sus etapas durante la producción, manejo, almacenamiento, transporte, higiene personal de los operarios y puntos de venta.
- Tomar más muestras periódicas para controlar la calidad de la leche cruda dirigida al consumo humano, de manera que se pueda conocer dónde se produce mayor contaminación.
- Investigar la procedencia de la leche cruda que es comercializada en los diferentes mercados municipales de la ciudad de Loja.
- Instruir a los productores ganaderos en el uso adecuado y correcta administración de antibióticos con el propósito de evitar que se produzcan resistencias que hoy en día son más comunes y peligrosas.

## 10. Bibliografía

- Abad, L. (2016). *Estudio microbiológico de la leche cruda comercializada en mercados populares de la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo* (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Alarcón, M. P., Oyarzo, C., Escudero, C., Cerda-Leal, F., Valenzuela, F. J., Alarcón Lavín, M. P., ... Valenzuela, F. J. (2017). *Portación de Staphylococcus aureus enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos*. *Revista médica de Chile*, 145(12), 1559–1564. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872017001201559>
- Alarcón, R (2018). *Identificación microbiológica y molecular de Escherichia coli y Staphylococcus aureus, en la leche del ganado vacuno de la hacienda La Verbena y su incidencia en vacas de diferente número de parto*. Imbabura, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra
- Alvarado-Yachi, T. H., Vargas-Moran, J. R., & Vargas-Paredes, A. (2019). *Prácticas de manejo de ordeño, acopio y su importancia en la calidad de la leche, Matahuasi, Concepción y Apata, Junín (Perú)*. *Canales Científicos*, 80(1), 225-239. [https://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/acu/article/view/1386/html\\_85](https://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/acu/article/view/1386/html_85)
- Anangonó, (2020). *Resistencia antibiótica de Staphylococcus aureus en vacas con mastitis en tres estratos lecheros del cantón Mejía*. (Trabajo de Titulación). ESPE, Universidad de las Fuerzas Armadas, Cantón Mejía, Ecuador.
- Arteaga L. *Implementación de un plan de mejoramiento de la calidad de la leche, de proveedores de lácteos San Antonio Cañar* [Internet]. Escuela superior politécnica de Chimborazo extensión Morona Santiago; 2017. Available from: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6079/1/27T0315.pdf>
- Aroca Rivera N. E. (2016) *Detección cualitativa de residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en el cantón Naranjal provincia del Guayas* (Trabajo de titulación). UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador.
- Babalola, Olubukola Oluranti, (2021). *Food Safety and Security: African Perspectives*. Cham, Suiza: Springer.

- Bonifaz, N., & Conlago, F. (2016). *Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador*. Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476051632003>
- Brusa, V., Colello, R., & Galli, L. (2019). *Escherichia coli productor de toxina Shiga*. En *Microbiología Veterinaria. Inter-Médica*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/119112>
- Cañizares Valencia, H. D. (2018). *Comprobación del ingreso de leche cruda con residuos de antibióticos a las plantas procesadoras en la ciudad de Machachi mediante el uso de tiras reactivas*. Ecuador: Universidad de las Américas.
- Caracundo, E. (2019). *Determinación de antibióticos Betalactámicos y Tetraciclinas en la leche cruda comercializada*. (Tesis pregrado). Cuenca, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca.
- Cervantes. (2014). *Características generales del Staphylococcus aureus*. Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio, 61(1), 28–40.
- Codex Alimentarius. (2018). *Comisión del Codex Alimentarius Límites Máximos de Residuos (LRM) y Recomendaciones sobre la Gestión de Riesgos (RGR) para Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos*, 45.
- Díaz, D. E. (2016). Extensión. Obtenido de <http://articles.extension.org/pages/9858/uso-deantibioticos-en-la-ganadera-lechera>
- Eliazar, C, Nina. (2022). *Análisis fisicoquímico y microbiológico de la leche de vacuno acopiada en la planta procesadora de lácteos “Túpac Amaru”, distrito Túpac Amaru-Cusco*.
- FAO (2011) *Buenas prácticas de ordeño*. Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura. <http://www.fao.org/3/a-bo952s.pdf>.
- Galli, L., Brusa, V., & Pellicer, K. (2019). *Staphylococcus aureus*. En *Microbiología Veterinaria. Inter-Médica*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/119114>

- Granizo Pumagualli, J. A. (2016). *Presencia de bacterias de los géneros Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Brucella abortus y su perfil de resistencia antimicrobiana en leche cruda bovina procedente de Tunshi y San Andrés*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Guaraca Pino, E. C., & Guaraca Sigüencia, L. A. (2019). *Guía técnica para la pasteurización de la leche*. <https://dspace.ucuenca.edu.ec>
- Guarín Patarroyo, C. E., & Restrepo Ochoa, D. A. (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), 516-538. <http://revalnutricion.sld.cu/index.php/rcan/article/view/1048>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2012). *Leche Cruda Requisitos NTE INEN 9:2012*
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2015). *Leche Cruda Requisitos NTE INEN 9:2015*
- Investigación, R. S. (2022, enero 3). *Escherichia coli causante de enfermedades entéricas*. *RSI - Revista Sanitaria de Investigación*. <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/escherichia-coli-causante-de-enfermedades-entericas/>
- Jiménez Velásquez, S. del C., Torres Higuera, L. D., Parra Arango, J. L., Rodríguez Bautista, J. L., García Castro, F. E., & Patiño Burbano, R. E. (2020). *Perfil de resistencia antimicrobiana en aislamientos de Staphylococcus spp. obtenidos de leche bovina en Colombia*. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 121-130. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2019.05.004>
- Landi, A. K. A., Arrieta, S. N. E., & Leal, F. D. A. (2021). *Calidad bacteriológica de la leche cruda bovina almacenada en el centro de acopio Mocha. Tungurahua. Ecuador*. *Siembra*, 8(2). <https://www.redalyc.org/journal/6538/653868341011/html/>
- Lampert, D., Porro, S., Cortizas, L., Condolucci, M., & Crivaro, L. (2022). *Desastres rápidos y lentos, y la generación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y*

zoonosis en el Antropoceno. *Divulgation: Perfiles académicos de posgrado*, 6(17), 51-66.

López Cárcamo, B. R. (2022). Investigación caso - 2019: *Inocuidad alimentaria vs. manipulación- capacitación en expendios de una universidad pública de Guatemala*. *Conciencia Digital*, 5(4.1), 6-20. <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v5i4.1.2391>

Lopez Gómez, N. M. (2019). *Numeración de bacterias aerobias mesófilas viables y coliformes en leche cruda acopiada para el programa Vaso de Leche en el distrito de Chiclayo. Mayo – octubre 2018*, Perú. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Llugín Lascano, J. J. (2017). *Análisis microbiológico y resistencia a antibióticos de la leche cruda de bovino comercializada en el mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba*. [BachelorThesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4978>

Mag, (2020). *En junio se intensificaron operativos de vigilancia y control de inocuidad de leche cruda, en todo el país*. <https://www.agricultura.gob.ec/en-junio-se-intensificaron-operativos-de-vigilancia-y-control-de-inocuidad-de-leche-cruda-en-todo-el-pais/>

Magallanes, I. (2018). Determinación de los niveles de Coliformes totales y Escherichia coli en suero y leche cruda. 7–15. [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29509/1/Ivan Magallanes.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29509/1/Ivan%20Magallanes.pdf)

Murillo, A. C. R., Osorio, M. J. A., & Faig, A. B. (2022). *Interacciones entre antibióticos y alimentos: Riesgo de resistencias antimicrobianas*. *Revista española de nutrición comunitaria = Spanish journal of community nutrition*, 28(2), 13.

MSP. (2021). *Enfermedades transmitidas por agua y alimentos. Otras intoxicaciones alimentarias*. <https://www.salud.gob.ec/wpcontent/uploads/2021/12/GACETA-GENERAL-ETAS-SEM-45.pdf>

Nero, L.A., & de Carvalho, A.F. (2019). *Challenges for Production and Consumption of Raw Milk and Raw Milk Products, Raw Milk, Spain*. Academic Press, 351-362 pp

Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009. *Leche Cruda. Requisitos*. [Internet]. Quito; sexta revisión, página web. 2014 [cited 2018 Feb 2]. p. 2–8. Available from:

[http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/07/nte\\_inen\\_009\\_6r.pdf%0Awww.inen.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf%0Awww.inen.gob.ec)

- Organización Mundial de La Salud. (2017). *Resistencia a los antibióticos. Organización Mundial de la Salud*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/>.
- Organización Mundial de la Salud. (2019). *Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria: sinopsis. Organización Mundial de la Salud*.
- Organización mundial de la Salud. (2019). *Ante la lentitud de los progresos realizados, la OMS ofrece una nueva herramienta y establece un objetivo para acelerar las medidas contra la resistencia a los antimicrobianos*. [En línea] Available at: *Ante la lentitud de los progresos realizados, la OMS ofrece una nueva herramienta y establece un objetivo para acelerar las medidas contra la resistencia a los antimicrobianos*
- OMS. (2018). *Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring*. In Organización Mundial de la Salud. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272871/9789241514279-eng.pdf?ua=1>
- OMS. (2021, November 17). *Resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de La Salud*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- OIE. (2021). *Informe anual de la OIE sobre los agentes antimicrobianos destinados a ser utilizados en los animales*. Quinto informe. París, Francia. Disponible en: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/09/e-fifth-annual-report-amr.pdf>
- Palomino-Camargo, C., González-Muñoz, Y., Pérez-Sira, E., & Aguilar, V. H. (2018). *Delphi methodology in food safety management and foodborne disease prevention*. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública*, 35(3), 483-490. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3086>
- Pasachova Garzón, J., Ramírez Martínez, S., & Muñoz Molina, L. (2019). *Staphylococcus aureus: Generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular*. *Nova*, 17(32), 25-38.
- Pedrozo, P.R.; Torres, Ñ.M.; López, R.D.; Alonso, V.N.; Valiente, O.L. (2021) *Prevalencia de microorganismos y perfil de resistencia antimicrobiana en bovinos lecheros de Paraguay*. *Rev. Vet.* 32: 1, 25-30

- Pérez, M, L. (2020). *Bacterias Eskape y nuevas estrategias de combate*. (Tesis de Grado). Madrid: Universidad Politécnica de Madrid.
- Quispe, Mirian E. Obregon-Yupanqui1, Carlos A. Ligarda Samanez, Betsy S. Ramos, Pacheco, Julio C. Sichez, Muñoz, Aydeé M. Solano, Reynoso & Yudith Choque, Q. (2020). *Residuos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas en la leche fresca adquirida por Comités de Vaso de Leche de los distritos de San Jerónimo y Andahuaylas, Apurímac, Perú*. Revista veterinaria 31(3), e18432 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18432>
- Quispe, R., Peña, G., & Andía, V. (2021). *Resistencia antimicrobiana de Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae aislados de leche de vacas con mastitis*. Revista veterinaria, 32(1), 79-83. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.3215640>
- Ramírez R, Melissa M; Lluman M, Priscila. (2020). *Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda almacenada en centros de acopio de la provincia de Chimborazo*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba.
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Rubayet Ul Alam, A., & Jahid, I. K. (2020). *Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties*. Journal of dairy science, 103(2), 1223–1237. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17092>
- Reyes, H. (2017). *Detección de antibióticos en leches crudas en las fincas de la parroquia de Cumbaratza que se expenden en Zamora Chinchipe*. (Tesis de Grado). Loja, Ecuador: Universidad Nacional de Loja. Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.
- Rodríguez Pérez, Roxana, & Muñoz Ganoza, Eduardo. (2017). *Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis en bovinos de un establo de Trujillo, Perú*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 28(4), 994-1001. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13874>
- Rodríguez, Guadalupe. (2022). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. Salud Pública de México, 44(5), 464-475.
- Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2018). *Antioxidative and antibacterial peptides derived from bovine milk proteins*. Critical Reviews in Food

Science and Nutrition, 58(5), 726-740.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1217825>

Signorini, M., 2018. *Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias en la producción primaria de leche*. [En línea] Available at: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23640/2/articulo12.pdf> [Último acceso: 15 2 2016]

Skeie, S. B., Håland, M., Thorsen, I. M., Narvhus, J., & Porcellato, D. (2019). *Bulk tank raw milk microbiota differs within and between farms: A moving goalpost challenging quality control*. *Journal of dairy science*, 102(3), 1959-1971. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-1408>

Trujillo C. (2016). *Análisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos de la leche cruda que se expende en el mercado de Santa Rosa, ciudad de Riobamba [Internet]. Escuela superior politécnica de Chimborazo*. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/6328>

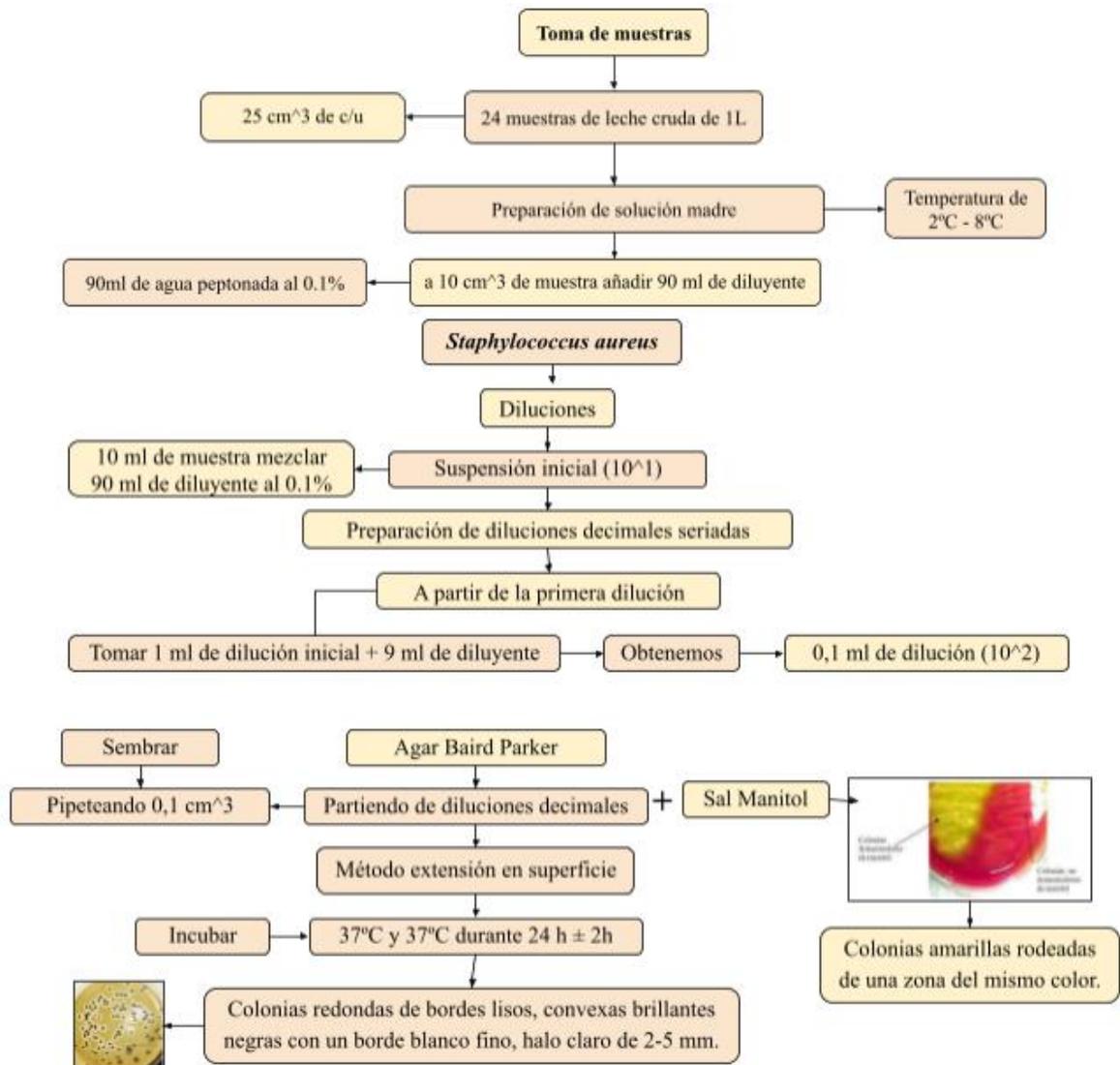
Tyasningsih, W., Ramandinianto, S. C., Ansharieta, R., Witaningrum, A. M., Permatasari, D. A., Wardhana, D. K., Effendi, M. H. y Ugbo, E. N. (2022). *Prevalencia y resistencia a antibióticos de Staphylococcus aureus y Escherichia coli aislados de leche cruda en Java Oriental, Indonesia*. *Mundo veterinario*, 15(8), 2021–2028. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2021-2028>

Valdivia, A., Rubio, Y., Pérez, Y., Sarmenteros, I., Vega, J., & Mendoza, A. (2020). *Factores que influyen en la calidad higiénico-sanitaria de la leche en dos lecherías*. *Pastos y Forrajes*, 43 (3):267-274.

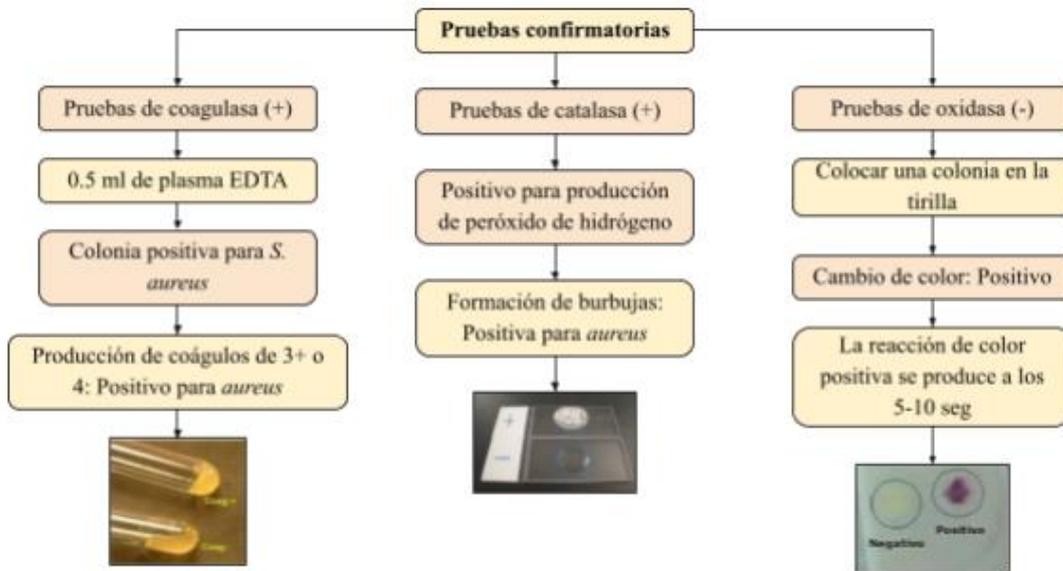
Villa, M., Vintimilla, A., López, G.-E., Andrade, O., & Narváez, J. (2017). *Detección de antibióticos en canales bovinos faenados en el camal municipal del cantón Azogues, Ecuador*. *Maskana*, 8, 137-139.

## 11. ANEXOS

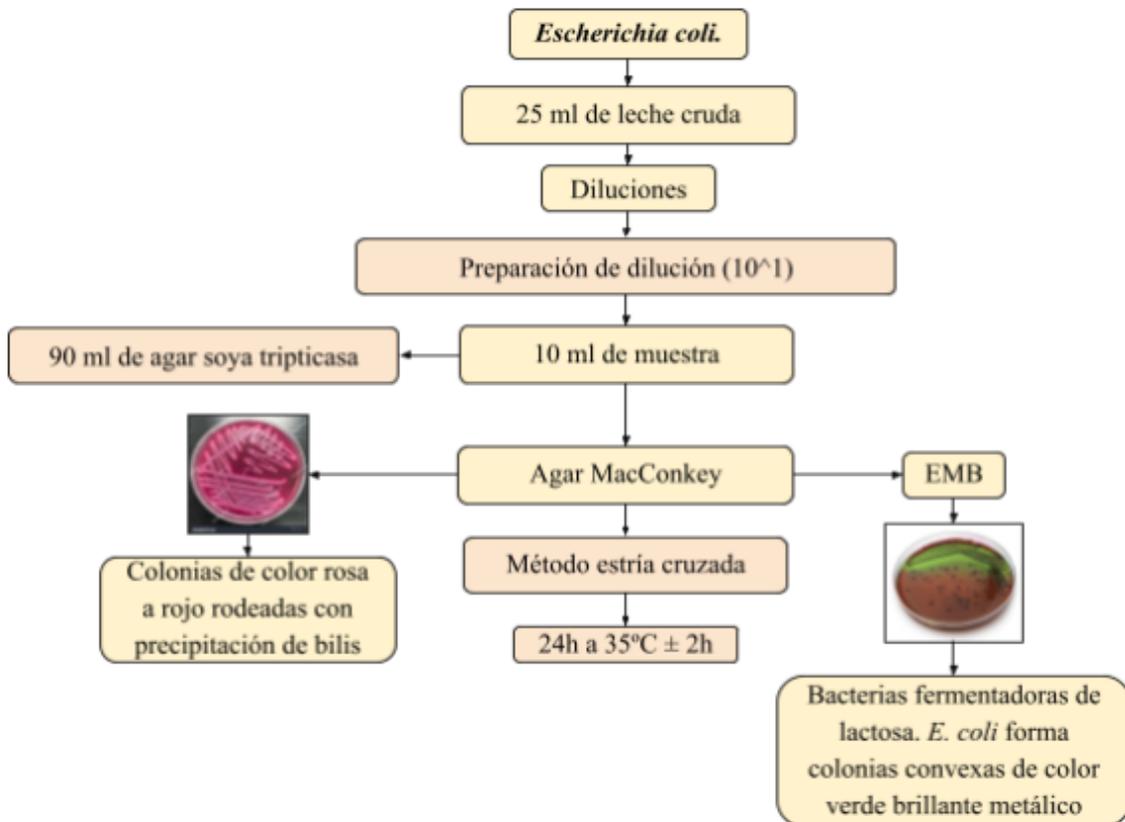
### Anexo 1. Diagrama de flujo para *Staphylococcus aureus*.



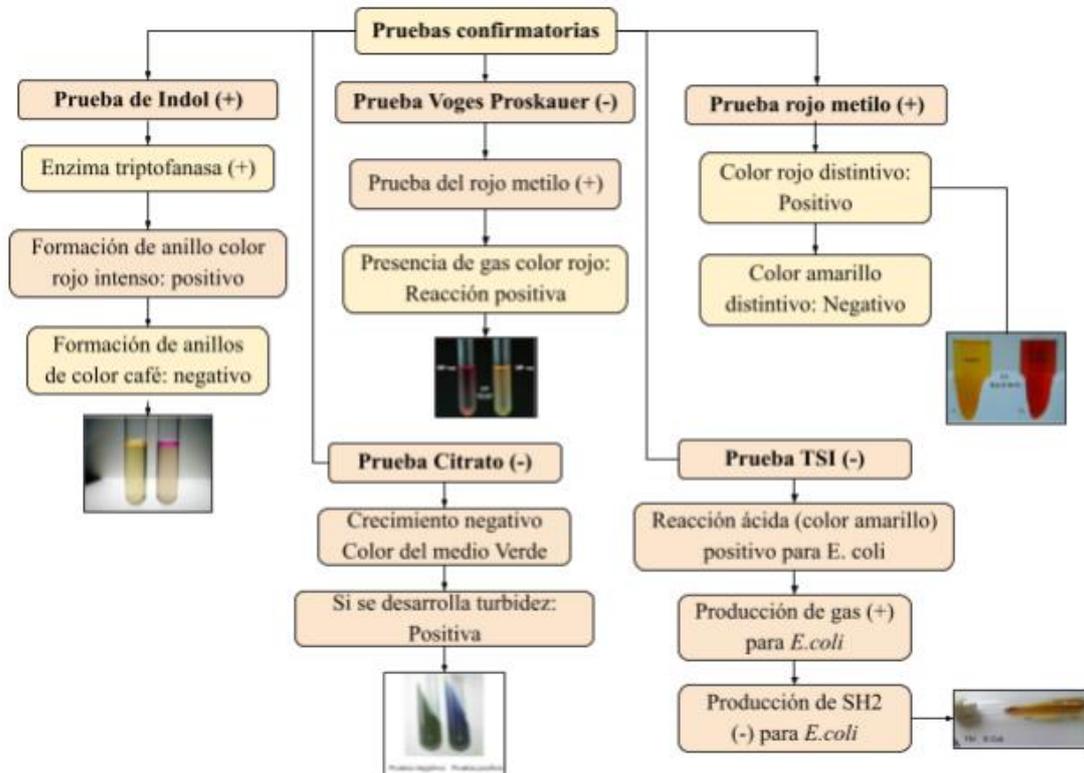
Anexo 2. Diagrama de flujo de pruebas bioquímicas para *Staphylococcus aureus*.



Anexo 3. Diagrama de flujo para *Escherichia coli*.

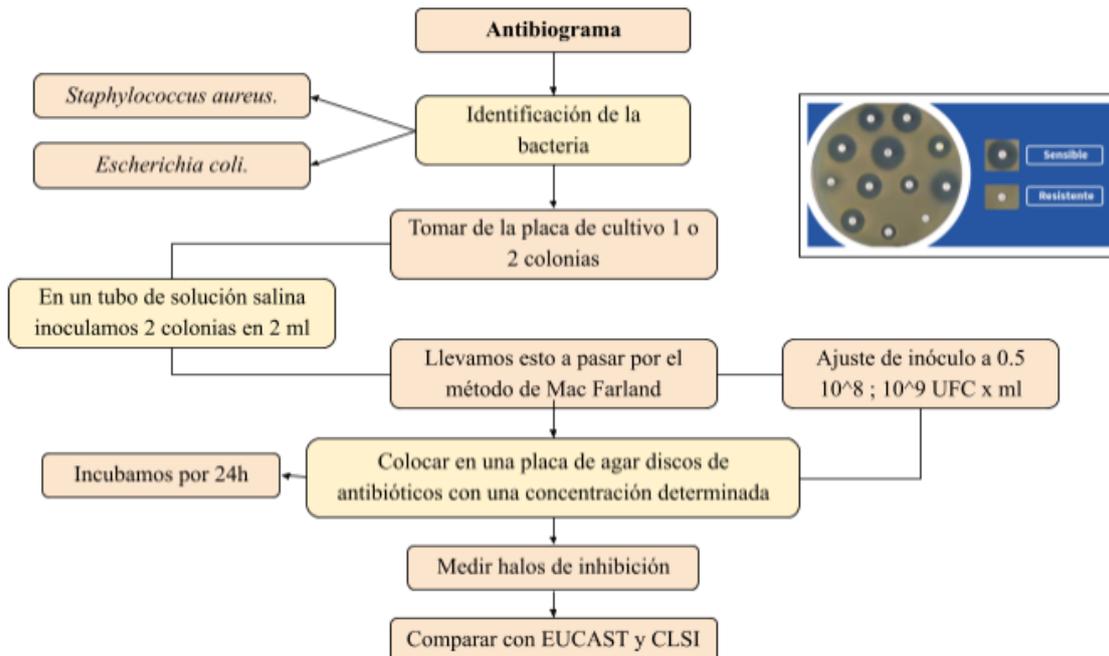


**Anexo 4.** Diagrama de flujo de pruebas bioquímicas para *Escherichia coli*

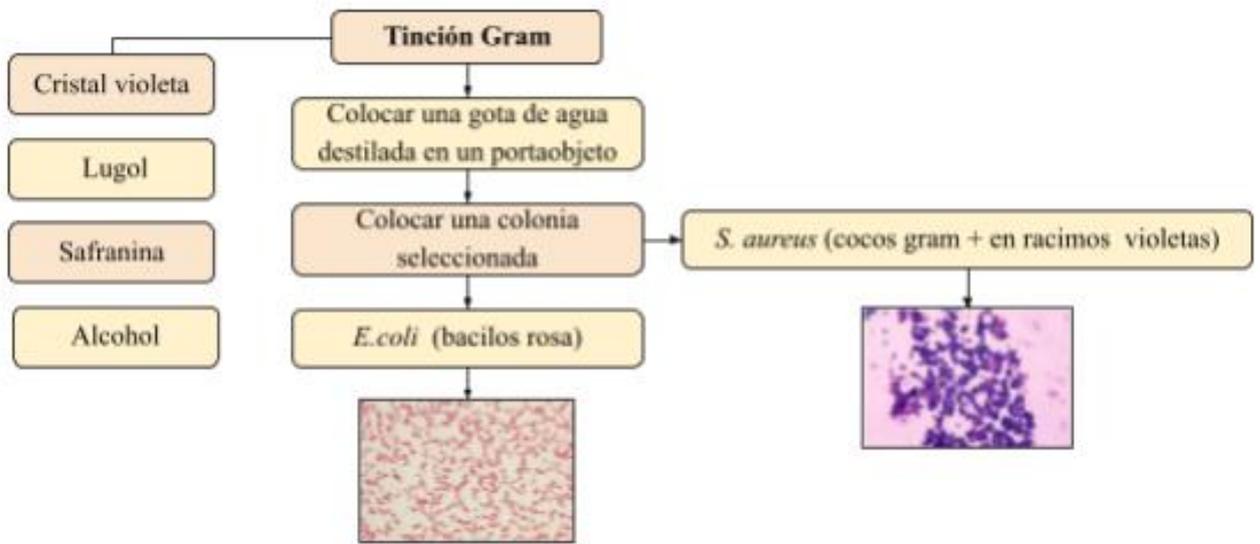


**Nota.** Adaptado de (INEN 1529-8,2016)

**Anexo 5.** Diagrama de flujo para la elaboración de Antibiograma

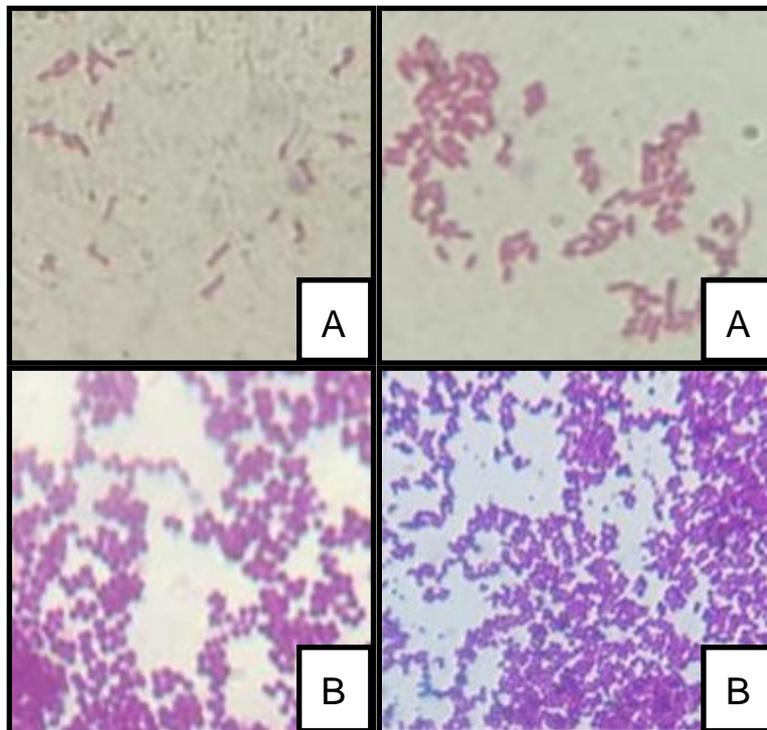


Anexo 6. Diagrama de flujo para la elaboración de Tinción Gram



Anexo 7. Tinción Gram de placas sospechosas

A: *Escherichia coli*. B: *Staphylococcus aureus*.



*Anexo 8. Pruebas confirmatorias para la identificación de Staphylococcus aureus.*

**Pruebas confirmatorias**

<b>Muestra</b>	<b>Catalasa</b>	<b>Oxidasa</b>	<b>Coagulasa</b>	<b>*Bacteria</b>
MM# 7	+	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
MM# 9	+	-	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
MC# 12	+	-	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
MC# 15	+	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
MC# 16	+	-	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
MS# 20	+	-	-	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
MT# 23	+	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
MT# 24	+	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>

*Nota: Identificación de otras bacterias coagulasa negativa tales como \*Staphylococcus saprophyticus y \*Staphylococcus haemolyticus.*

**Anexo 9. Pruebas bioquímicas realizadas a las 11 placas sospechosas de Escherichia coli previamente seleccionadas.**

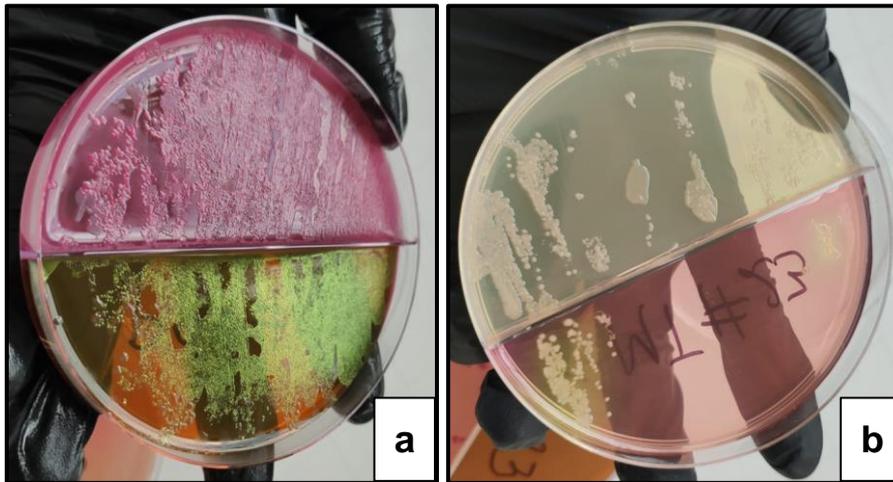
Muestra	SIM	Mov.	Indol	P. Sh2	TSI	A_A	P. gas	P. Sh2	Sim C	Crecimiento	Color. M	Lisina	Descarboxilación.	Desaminación.	P. Sh2	Voges P	Bacteria
MM#6	-/+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i> spp
MM#9	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+/-	+	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MM#10	-/+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	<i>Shigella</i> spp
MC#13	-/+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i> spp
MC#14	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MC#15	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>Salmonella</i> spp
MC#16	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+/-	+	-	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MS#19	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+/-	+	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MS#20	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+/-	+	-	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MT#23	-/+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	<i>Shigella</i> spp
MT#24	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>Salmonella</i> spp

**Nota:** Identificación de otras bacterias gram negativas presentes en las muestras de leche cruda

**Anexo 10. Crecimiento bacteriano en medios de cultivo**

a: Colonias de bacterias en agar MacConkey y EMB.

b: Colonias de bacterias en agar Baird Parker y Sal Manitol.

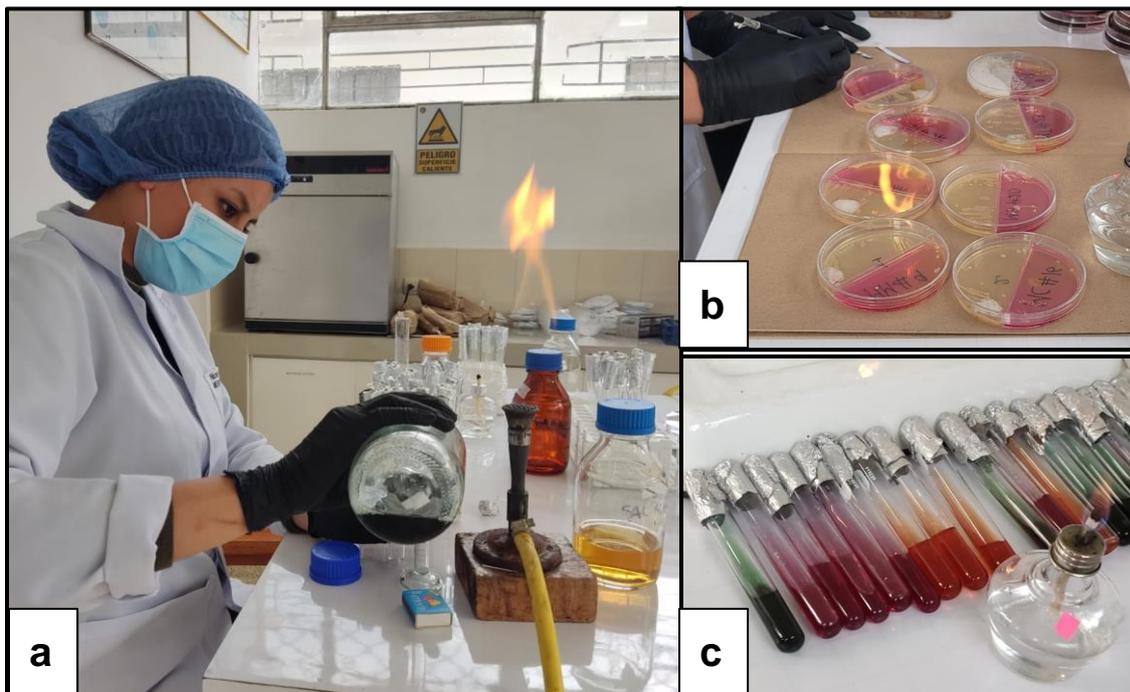


**Anexo 11. Realización de pruebas bioquímicas**

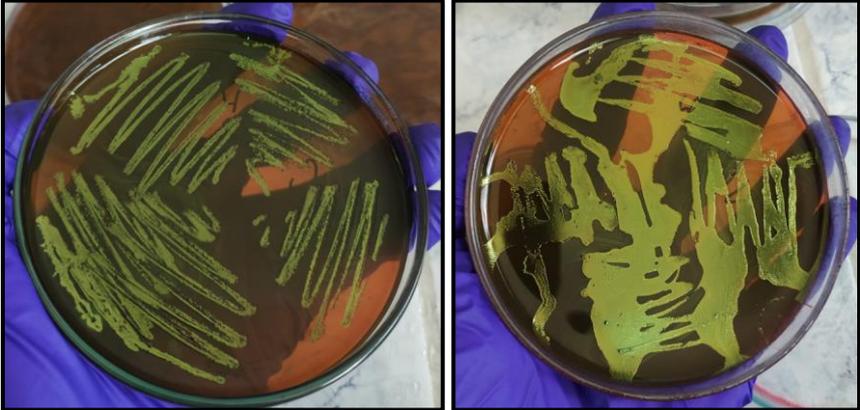
a: Preparación de bacterias.

b: Pruebas bioquímicas de *Staphylococcus aureus*.

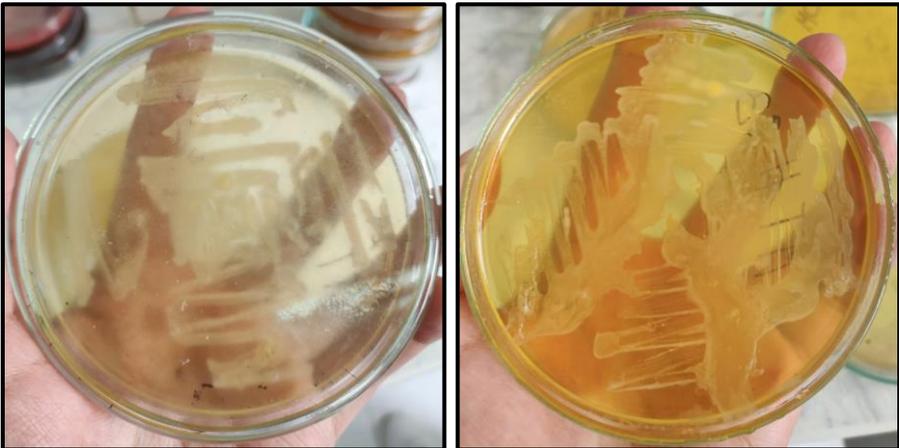
c: Pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.



*Anexo 12. Cultivos puros con crecimiento bacteriano para Escherichia coli.*



*Anexo 13. Cultivos puros con crecimiento bacteriano para Staphylococcus aureus.*



*Anexo 14. Ajuste de inóculo en espectrofotómetro.*

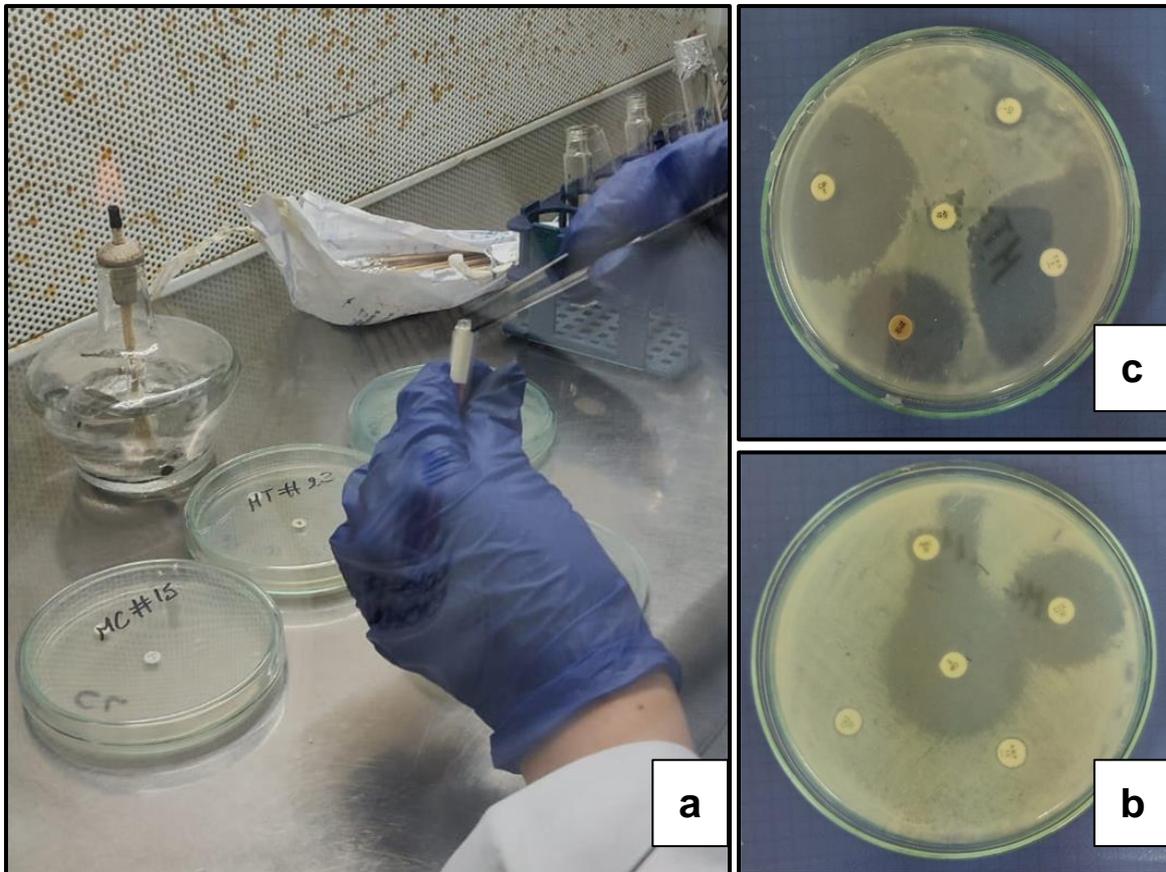


**Anexo 15. Realización de Antibiograma.**

a: Colocación de discos de antibióticos.

b: Antibiograma de *Escherichia coli*.

c: Antibiograma de *Staphylococcus aureus*.



## English Speak Up Center

Nosotros "English Speak Up Center"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen de Tesis titulado "EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADAS EN LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE LOJA." documento adjunto solicitado por la señorita Nicole Paulina Cango Jara con cédula de ciudadanía número 1105916512 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, 28 de agosto de 2023

  
Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo  
DIRECTORA ACADÉMICA