



UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“Presencia de cepas de *E. coli* patógenas resistentes a antibacterianos en carne molida de expendio en el mercado de Ciudad de Dios, San Juan de Miraflores, Lima”

Tesis para Optar el Título Profesional de

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

MARÍA CECILIA SARMIENTO DU-PONT

BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNICA

LIMA – PERÚ

2014

DEDICATORIA

Este trabajo de Investigación está dedicado a mis padres, Alonso Jaime y María del Pilar, por su amor, paciencia, comprensión y apoyo en todo el camino de la realización de este trabajo. A mi abuelito Carlos quien está en el cielo y siempre le estaré agradecida por los valores y la educación que me dio.

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo de investigación no hubiera sido posible sin el apoyo y colaboración de muchas personas. A todas ellas, quiero expresar mi más sincero reconocimiento:

Al M.V Siever Morales Cauti, por la dirección y apoyo en todo la realización de este trabajo.

A los Blgos. Elfer Valdivia y Joice del Pino por facilitarme los laboratorios de Microbiología y Biología Molecular

Al Blgo. Rafael Alvis Dábila por el apoyo en la etapa de procesamiento de la PCR.

Al M.V Daniel Sánchez y la M.V Maribel Clemente doctora de la Municipalidad de San Juan de Miraflores por brindarme su apoyo y colaboración en la etapa de recolección de muestras, en el mercado de Ciudad de Dios.

Al M.V Eglinton Villacaqui, quien me apoyo en la parte estadística durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

A las Técnicas de laboratorio Verónica, Evelin y Isabel que me apoyaron en la etapa de procesamiento de muestras.

A mi padre Alonso Jaime por ayudarme con parte de la inversión de este proyecto.

A Gustavo Sosaya por su ayuda en la estructuración de los cuadros de resultados

Y por último agradecer a mis amigas Cristina, Patricia, Karla, Fabiola, Ana Lucia, Lupe y July porque su amistad bastó para ser un apoyo incondicional

RESUMEN

La *Escherichia coli* es una de las principales causantes de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) a nivel mundial. Puede considerarse parte de la flora normal del intestino humano; sin embargo, hay descritos nueve grupos de *E. coli* patógenas denominados patotipos extra e intractestinales. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de cepas de *E. coli* patógenas resistentes a antibacterianos en carne molida de expendio en el mercado de Ciudad de Dios en el distrito de San Juan de Miraflores, de la provincia de Lima. Se colectaron muestras de carne molida (65g.) de forma estéril y debidamente conservadas a partir de treinta puestos, remitidos al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur, donde por métodos de aislamiento bacteriano utilizando caldo de tripticasa de soya (Merck), agar Mac Conkey y Eosina azul de metileno (Merck). Se aisló 178 cepas bacterianas las cuales por medio de pruebas bioquímicas, se logró identificar 142 cepas de *E. coli*, que posteriormente fueron sometidas a la prueba molecular PCR Multiplex, resultando un 42.96% \pm 0.080 (61/142) positivos a genes marcadores filogénicos *yjaA*, *chuA* y/o *TspE4.C2*; De estos, el grupo filogénico B1 fue el de mayor presencia con un 37.70% \pm 0.121 (23/61), seguido por el grupo filogénico B2 con un 34.43% \pm 0.119 (21/61) donde se encuentran una amplia variedad de principalmente de cepas extraintestinales altamente patógenas, el grupo A con 16.39% \pm 0.092 (10/61), y el grupo D con 11.48% \pm 0.080 (7/61). Además, se determinó el perfil de susceptibilidad a 12 antibióticos (ampicilina, ceftriazona, amoxicilina, gentamicina, amikacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacina, cloranfenicol, tetraciclina, sulfatrimetropin y estreptomina), por el método de difusión de Kirby-Bauer, donde la *E. coli* presentó resistencia a tetraciclina con un 46.98% \pm 0.08 (66/142), ampicilina con un 32.39% \pm 0.078 (46/142) y estreptomina con un 42.96% \pm 0.078 (61/142).

ABSTRACT

Escherichia coli is a leading cause of foodborne disease (FBD) worldwide. It can be considered part of the normal flora of the human intestine; however, there is described nine groups of pathogenic *E. coli* pathotypes called extra- and intra intestinales. The present study had as an objective to determine the presence of stumps of *E. coli* pathogenic resistant to antibacterial in ground beef in Ciudad de Dios market in the district of San Juan de Miraflores, Lima province. Samples of ground beef were collected (65 in sterile and properly preserved from thirty posts, sent to the Microbiology Laboratory of the Universidad Científica del Sur by methods of bacterial isolation utilizing broth of tripticasa of soy (Merck), agar Mac Conkey and Eosina blue of methylene (Merck) . It was isolated 178 bacterial stumps which through biochemical tests, managed to identify 142 stumps of *E. coli*, that subsequently they were submitted to the molecular test PCR Multiplex, resulting a 42,96% \pm 0.080 (61/142) positive to genes scoreboards phylogenetic yjaA Chua and / or TspE4.C2; Of these, the B1 phylogenetic group was the largest presence with 37.70% \pm 0.121 (23/61), followed by the B2 phylogenetic group with a 34.43% \pm 0.119 (21/61) where you will find a wide variety of mainly highly pathogenic intestinal strains, group A with 16.39% \pm 0.092 (10/61), and group D with 11.48% \pm 0.080 (7/61). Furthermore, the profile of sensitivity to 12 antibiotics was determined (ampicilina, ceftriazona, amoxicilina, gentamicina, amikacina, acid nalidixico, norfloxacina, ciprofloxacina, cloranfenicol, tetraciclina, sulfatrimetropin and streptomycin), by the method of diffusion of Kirby-Bauer, where the *E. coli* I present resistance to tetraciclina with a 46,98% \pm 0,08 (66/142), ampicilina with a 32,39% \pm 0,078 (46/142) and streptomycin with a 42,96% \pm 0,078 (61/142).

INDICE GENERAL

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN -----	1
II. MARCO DE REFERENCIA -----	2
II.1. HISTORIA -----	2
II.2. MORFOLOGÍA -----	2
II.3. CLASIFICACION TAXONÓMICA -----	3
II.4. GENÉTICA BACTERIANA -----	3 - 4
II.5. PATOTIPOS Y SEROTIPOS -----	5
II.6. PATOGENIA -----	6
II.6.1.DOSIS INFECTIVA -----	6
II.6.2. TRANSMICIÓN -----	7
II.6.3. PERIODO DE INCUBACIÓN -----	8
II.6.4. SINTOMATOLOGÍA -----	8
II.7. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD -----	8 - 10
II.8. PREVALENCIA DE COLIBACILOSIS -----	11
II.9. DIAGNÓSTICO -----	11
II.9.1. AISLAMIENTO BACTERIANO -----	11
II.9.2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS -----	12
II.9.3. TÉCNICAS MOLECULARES- PCR -----	13 -14
II.9.4. RESISTENCIA -----	14
II.9.5. FILOGENIA -----	15
II.9.6. IMPORTANCIA EN LA SALUD PÚBLICA -----	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS -----	16
III.1. LUGAR DE ESTUDIO -----	16
III.2. TOMA DE MUESTRAS -----	16
III.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS -----	17
III.3.1. AISLAMIENTO BACTERIANO -----	17
III.3.1.1. AGUA PEPTONADA -----	17
III.3.1.2. CULTIVOS EN AGARES SELECTIVOS -----	17
III.3.1.3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS -----	17-18
III.3.1.4. MÉTODO DE KIRBY – BAUER -----	19
III.3.1.5. DETERMINACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBACTERIANOS--	20
III.3.2. IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FILOGÉNICOS -----	23
III.3.2.1.ETAPA DE EXTRACCIÓN DE ADN CON PROTEINASA K -----	21
III.3.2.2. PREPARACIÓN DE MEZCLA PARA PCR -----	21
III.3.2.3. TERMOCICLADOR CON GRADIENTE -----	21
III.3.2.4. ELECTROFORESIS -----	21-22
III.3.2.5. COLORACIÓN DEL GEL -----	22
III.4. MATERIALES Y EQUIPOS -----	22-23
III.5. DISEÑO DEL MUESTREO Y CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL -----	23
III.5.1. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL -----	24

IV. RESULTADOS -----	25-27
V. DISCUSIÓN -----	28-34
VI. CONCLUSIONES -----	35
VII. RECOMENDACIONES -----	36
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	38-48