

Universidad Católica de Santa María

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotecnológicas**

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



**Evaluación de genes de resistencia a beta-lactámicos en bacterias aisladas
de muestras de pollo para el consumo humano en mercados de Arequipa –
2024.**

Tesis presentada por el Bachiller:

Sanchez Ortiz, Manuel Antonio

ORCID: 0009-0004-5095-8900

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Biotecnólogo.

Asesor (a):

Dra. Ita Balta, Yuma Aracely

ORCID: 0000-0002-3795-898X

Arequipa – Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 30 de Junio del 2025

Dictamen: 012768-C-EPIB-2025

Visto el borrador del expediente 012768, presentado por:

2019247211 - SANCHEZ ORTIZ MANUEL ANTONIO

Titulado:

EVALUACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A BETA-LACTÁMICOS EN BACTERIAS AISLADAS DE MUESTRAS DE POLLO PARA EL CONSUMO HUMANO EN MERCADOS DE AREQUIPA - 2024.

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO BIOTECNOLOGO

**29630612 - TERAN DIANDERAS ADILMI MILAGRO
DICTAMINADOR**



**45945764 - YUGRA CONDORI MONICA MEYLIN
DICTAMINADOR**



**71093620 - JOHNSON CORRALES FABRIZIO
DICTAMINADOR**



Evaluación de genes de resistencia a beta-lactámicos en bacterias aisladas de muestras de pollo para el consumo humano en mercados de Arequipa -2024.

INFORME DE ORIGINALIDAD

17%

INDICE DE SIMILITUD

16%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
2	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1%
3	www.coursehero.com Fuente de Internet	1%
4	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	<1%
5	www.delfinultracongelados.es Fuente de Internet	<1%
6	zagan.unizar.es Fuente de Internet	<1%
7	patents.google.com Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	<1%

Dedicatoria.

A mis abuelos, que fueron el sustento y motivación que guiaron a motivarme a cada día ser mejor.

A mi familia Ortiz Elorreaga, que sin su apoyo esto no hubiera sido posible.



Agradecimientos.

Al doctor Jorge Ballón Echegaray por brindar las instalaciones del Laboratorio de Investigación Microbiología Molecular (LIMM) de la UNSA, además de nutrir con sus conocimientos y enseñanzas, a la Dra. Yuma Ita Balta, por su apoyo y paciencia, y a los integrantes del laboratorio LIMM.

A mi abuelo Manuel Ortiz Lascano y mi abuela Corina Elorreaga Orozco por siempre estar presentes a mi lado, apoyarme en todo momento, su amor incondicional y no dejar que me rindiera, a mi mamá Elizabeth Ortiz Elorreaga y hermanos por el apoyo incondicional que me dieron, y a mi familia Ortiz Elorreaga por cada enseñanza y palabras de apoyo que me brindaron.

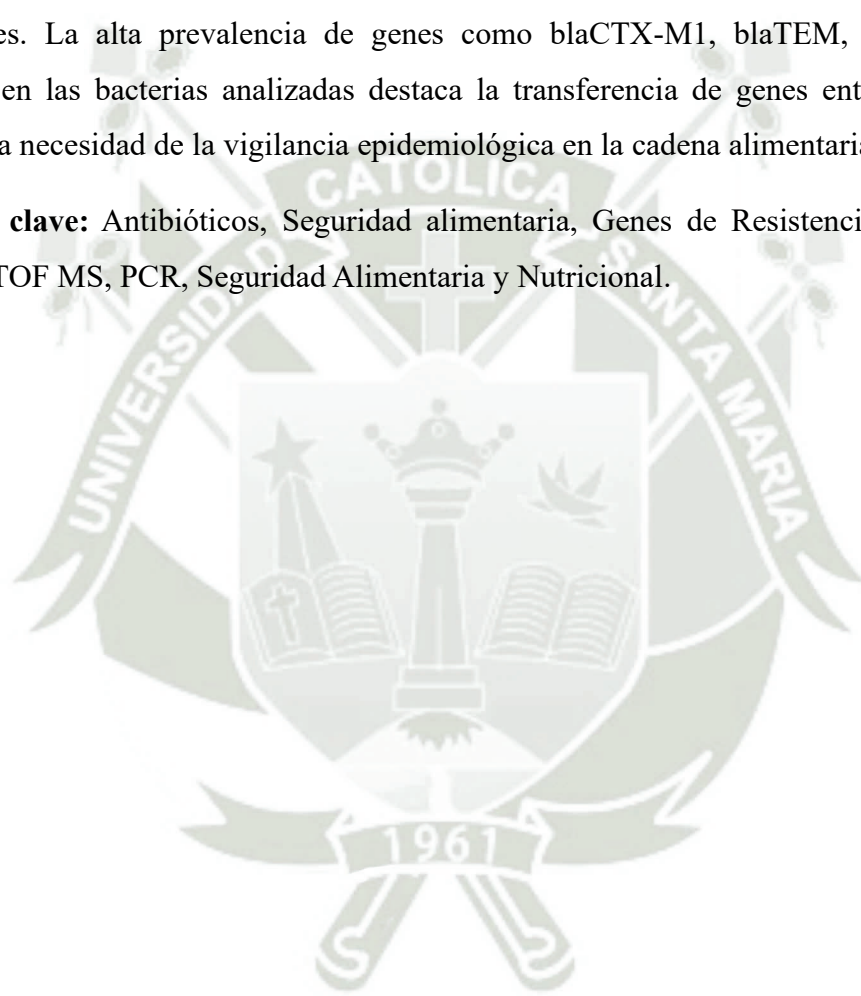


Resumen.

La seguridad alimentaria es un componente principal en la salud pública, además de ser un derecho básico, ya que busca garantizar el acceso a alimentos inocuos, suficientes y nutritivos sin perjudicar a la población. Sin embargo, este principio se ve amenazado por la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos, ya que es una problemática global reconocida por la OMS, adquiriendo más relevancia por el uso inadecuado de los antibióticos. Bajo este preámbulo, los alimentos pueden actuar como vehículos de transmisión de bacterias resistentes a los antibióticos, poniendo en riesgo la eficacia terapéutica en infecciones humanas comunes. Los antibióticos β -lactámicos, son el grupo de antibióticos ampliamente utilizados en la medicina humana y veterinaria, estos se ven en riesgo por la acción de enzimas llamadas β -lactamasas, que hidrolizan a los antibióticos, resultando en la ineficacia de estos, por la presencia de genes de resistencia que le confiere la capacidad de sintetizar estas enzimas a las bacterias. Para determinar la presencia de estos genes, se aisló bacterias presentes en la carne de pollo eviscerada para el consumo humano, recolectando las muestras de tres mercados de Arequipa. La identificación bacteriana y la presencia de los genes se detectó mediante la espectrometría de masas por desorción láser asistida por matriz, ionización y tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS) y PCR convencional, respectivamente. Se identificaron principalmente bacterias de relevancia alimentaria y clínica, como: *Proteus mirabilis* (41.4%), *Aeromonas spp.* (35.6%), *Escherichia coli* (2.9%), *Morganella morganii* (2.9%) *Providencia alcalifaciens*

(1.4%) y *Providencia rettgeri* (1.4%), *Aeromonas sobria* (5.7%), *Aeromonas veronii* (4.3%) y *Aeromonas caviae* (1.4%). Estas bacterias se encuentran asociadas a enfermedades ITU, gastrointestinales, infecciones oportunistas, septicemia y ataca individuos inmunocomprometidos. Se evaluaron nueve genes de resistencia a β -lactámicos (blaCTX-M1, blaCTX-M15, blaCMY, blaTEM, blaPER-2, blaNDM, blaMOX, blaVIM y blaOXA-48), evidenciando la presencia de genes que codifican para la presencia de enzimas como ESBL, MBL y AmpC, algunas confieren resistencia a antibióticos de última línea en el tratamiento de infecciones. La alta prevalencia de genes como blaCTX-M1, blaTEM, blaCTX-M-15 y blaMOX en las bacterias analizadas destaca la transferencia de genes entre bacterias y se presenta la necesidad de la vigilancia epidemiológica en la cadena alimentaria.

Palabras clave: Antibióticos, Seguridad alimentaria, Genes de Resistencia, β -Lactamasas, MALDI-TOF MS, PCR, Seguridad Alimentaria y Nutricional.



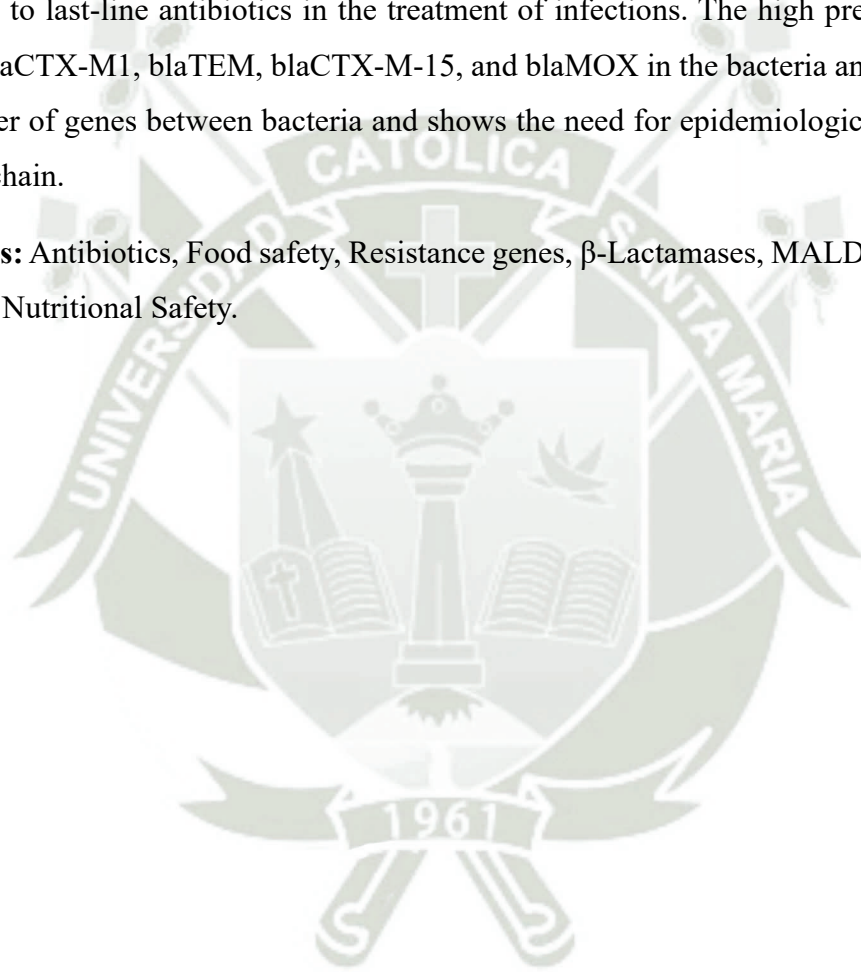


Abstract.

Food safety is a key component of public health, besides being a basic right, as it seeks to guarantee access to safe, sufficient, and nutritious food without harming the population. However, this principle is threatened by the increasing bacterial resistance to antibiotics, which is a global problem recognized by the WHO and is becoming more relevant due to the inappropriate use of antibiotics. Under this preamble, food can act as a vehicle for the transmission of antibiotic-resistant bacteria, jeopardizing the therapeutic efficacy in common human infections. β -lactam antibiotics are a group of antibiotics widely used in human and veterinary medicine. They are at risk due to the action of enzymes called β -lactamases, which hydrolyze antibiotics, rendering them ineffective due to the presence of resistance genes that give bacteria the ability to synthesize these enzymes. To determine the presence of these genes, bacteria present in chicken meat eviscerated for human consumption were isolated, collecting samples from three markets in Arequipa. Bacterial identification and the presence of genes were detected by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and conventional PCR, respectively. Bacteria of food and clinical relevance were mainly identified, such as: *Proteus mirabilis* (41.4%), *Aeromonas spp.* (35.6%),

Escherichia coli (2.9%), *Morganella morganii* (2.9%), *Providencia alcalifaciens* (1.4%) and *Providencia rettgeri* (1.4%), *Aeromonas sobria* (5.7%), *Aeromonas veronii* (4.3%) and *Aeromonas caviae* (1.4%). These bacteria are associated with UTIs, gastrointestinal diseases, opportunistic infections, septicemia, and attacks on immuno-compromised individuals. Nine β -lactam resistance genes (*bla*CTX-M1, *bla*CTX-M15, *bla*CMY, *bla*TEM, *bla*PER-2, *bla*NDM, *bla*MOX, *bla*VIM, and *bla*OXA-48) were evaluated, evidencing the presence of genes that encode for the presence of enzymes such as ESBL, MBL, and AmpC, some of which confer resistance to last-line antibiotics in the treatment of infections. The high prevalence of genes such as *bla*CTX-M1, *bla*TEM, *bla*CTX-M-15, and *bla*MOX in the bacteria analyzed highlights the transfer of genes between bacteria and shows the need for epidemiological surveillance in the food chain.

Keywords: Antibiotics, Food safety, Resistance genes, β -Lactamases, MALDI-TOF MS, PCR, Food and Nutritional Safety.



Índice

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Resumen	
Abstract	
Introducción.	1
CAPÍTULO I.	6
Marco Teórico.	6
1.1 Seguridad alimentaria.....	6
1.1.1 El termino Food Safety	7
1.1.2 Desafíos de Food Safety.....	9
1.2 Food Safety en el Perú	9
1.2.1 El papel de SENASA y DIGESA.....	9
1.3 Zoonosis	10
1.4 <i>Gallus gallus domesticus</i>	11
1.4.1 Taxonomía.....	11
1.4.2 Valor nutricional.....	12
1.4.3 El pollo en el consumo peruano	13
1.4.4 Organismos en el deterioro de la carne de pollo	13
1.4.5 La resistencia en los antibióticos transmitida en los alimentos.....	14
1.5 Taxonomía de especies aisladas de la carne de pollo.....	15
1.5.1 <i>Aeromonas</i>	15
1.5.1.1 Taxonomía.....	16
1.5.2 <i>Escherichia coli</i>	16
1.5.2.1 Taxonomía.....	16

1.5.3	<i>Morganella morganii</i>	17
1.5.3.1	Taxonomía.....	17
1.5.4	<i>Proteus mirabilis</i>	17
1.5.4.1	Taxonomía.....	17
1.5.5	<i>Providencia alcalifaciens</i> y <i>rettgeri</i>	18
1.5.5.1	Taxonomía.....	18
1.6	Enfermedades que causan las especies aisladas del pollo.....	19
1.6.1	Enfermedades que causa <i>Aeromonas</i>	19
1.6.2	Enfermedades que causa <i>E. coli</i>	20
1.6.3	Enfermedades que causa <i>M. morganii</i>	20
1.6.4	Enfermedades que causa <i>P. mirabilis</i>	21
1.6.5	Enfermedades que causa <i>P. alcalifaciens</i> y <i>rettgeri</i>	21
1.7	Los antibióticos.....	22
1.7.1	En papel de los antibióticos en las infecciones y resistencia.....	22
1.8	Mecanismos de resistencia bacteriana.....	24
1.8.1	Mutaciones en el sitio objetivo.....	24
1.8.2	Mutaciones genéticas.....	24
1.8.3	Transferencia horizontal de genes (HGT).....	24
1.8.4	Formación de Biofilms.....	25
1.8.5	Inactivación enzimática.....	25
1.8.6	Respuesta Stringert.....	25
1.8.7	Permeabilidad alterada.....	25
1.8.8	Bombas de eflujo.....	25
1.9	Mecanismo de acción de los antibióticos.....	25
1.9.1	Inhibición de la síntesis de la pared celular.....	26

1.9.2	Inhibición de síntesis de proteínas	26
1.9.3	Inhibición de síntesis de ácido nucleico	26
1.9.4	Interrupción en la membrana celular bacteriana	26
1.9.5	Alteración de procesos metabólicos	27
1.10	Los β -lactámicos	27
1.10.1	Resistencia bacteriana a los β -lactámicos	28
1.10.1.1	Clase de enzimas β -lactamasas	29
1.10.1.2	Familia de enzimas contra β -lactámicos	30
1.10.1.2.1	β -lactamasas de espectro reducido.....	30
1.10.1.2.2	β -lactamasas de espectro extendido.....	30
1.10.1.2.3	Carbapenemasas	32
1.11	MALDI-TOF MS	33
1.12	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	34
CAPÍTULO II		36
Materiales y métodos		36
2.1	Lugar de ejecución	36
2.2	Materiales	36
2.2.1	Reactivos	36
2.2.2	Material biológico	36
2.2.3	Equipos.....	36
2.2.4	Vidrio.....	37
2.2.5	Otros	37
2.3	Métodos.....	37
2.3.1	Recolección de muestras	37
2.3.2	Procesamiento de muestras	37

2.3.3	Aislamiento de las bacterias del pollo.....	38
2.3.4	Identificación mediante MALDI-TOF MS	38
2.3.5	Extracción de ADN bacteriano.....	39
2.3.6	Evaluación de la calidad del ADN	40
2.3.7	Evaluación de genes de resistencia	40
2.3.7.1	Parámetros para PCR convencional	40
2.3.8	Electroforesis.....	42
CAPÍTULO III.....		43
Resultados y discusiones.....		43
3.1	Identificación bacteriana de los mercados	43
3.2	Extracción y cuantificación de ADN bacteriano	46
3.3	Detección de los genes de resistencia a β -lactámicos	46
3.3.1	<i>P. mirabilis</i>	48
3.3.2	<i>Aeromonas</i>	50
3.3.3	<i>E. coli</i>	52
3.3.4	<i>M. morgani</i>	54
3.3.5	<i>P. rettgeri</i> y <i>P. alcalifaciens</i>	55
CAPÍTULO IV.....		57
Conclusiones		57
CAPÍTULO V		59
Recomendaciones.....		59
Referencias Bibliográficas.		60
Anexos.		76

Índice de Figuras.

Figura 1. Animales que son capaces de transmitir enfermedades a los seres humanos.	11
Figura 2. Representación gráfica del uso de los antibióticos y la interconexión en el ecosistema. BRA: Bacterias Resistentes a los Antibióticos; GAR: Genes de Resistencia a los Antibióticos.....	15
Figura 3. Anillo β -lactámicos y sus derivados en tipos de antibióticos.	28
Figura 4. MALDI-TOF MS y preparación de las muestras para su identificación.	39
Figura 5. kit TIANamp Bacteria DNA Kit (TIANGEN®).....	40
Figura 6. Equipo de electroforesis del laboratorio.	42
Figura 7. Identificación microbiológica del mercado Nueva Esperanza.....	43
Figura 8. Identificación microbiológica del mercado Acomare	43
Figura 9. Identificación microbiológica del mercado de San Camilo	44
Figura 10. Representación general de los tres mercados.....	45
Figura 11. Equipo de cuantificación de ADN Eppendorf BioSpectrometer® con pureza y calidad del ADN	46
Figura 12. Lectura del gel de agarosa en el transiluminador UV, las últimas dos bandas que se muestran en la figura B representan el control negativo y positivo.	47
Figura 13. Representación gráfica de las muestras positivas de <i>P. mirabilis</i>	48
Figura 14. Representación gráfica de las muestras positivas de <i>Aeromonas spp.</i>	50
Figura 15. Representación gráfica de las muestras de <i>A. caviae</i> positivas	51
Figura 16. Representación gráfica de las muestras positivas de <i>A. sobria</i>	52
Figura 17. Representación gráfica de las muestras positivas para <i>A. veronii</i>	52
Figura 18. Representación gráfica de las muestras positivas de <i>E. coli</i>	53
Figura 19. Representación gráfica de las muestras positivas para <i>M. morgani</i>	54
Figura 20. Representación gráfica de las muestras positivas para <i>P. rettgeri</i> y <i>P. alcalifaciens</i>	56

Índice de Tablas.

Tabla 1.	Clasificación taxonómica	11
Tabla 2.	Composición nutricional de la carne de pollo.....	12
Tabla 3.	Clasificación taxonómica de <i>Aeromonas</i>	16
Tabla 4.	Clasificación taxonómica de <i>E. coli</i>	16
Tabla 5.	Clasificación taxonómica de <i>M. morgani</i>	17
Tabla 6.	Clasificación taxonómica de <i>P. mirabilis</i>	18
Tabla 7.	Clasificación de <i>P. alcalifaciens</i> y <i>rettgeri</i>	18
Tabla 8.	Volúmenes de los componentes de la PCR.	40
Tabla 9.	Secuencia de Primers y Tm.....	41
Tabla 10.	Resumen de las muestras positivas	48

Abreviaturas.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

OMS: Organización Mundial de la Salud

DIGESA: Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud.

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

MINSA: Ministerio de Salud.

UE: Unión Europea

CLSI: El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (de Clinical Laboratory Standard Institute)

UFC: Unidades Formadoras de Colonia.

MAC: Complejo de ataque a membrana.

ITU: Infección del tracto urinario.

CAUTI: Infecciones del tracto urinario asociado al catéter.

HUS: Síndrome urémico hemolítico.

MRD: Multirresistente.

ARN: Ácido ribonucleico ribosómico

MALDI-TOF MS: Espectrometría de masas por desorción láser asistida por matriz, ionización y tiempo de vuelo

CHCA: α -Ciano-4-hydroxycinnamic acid

Introducción.

La seguridad alimentaria e inocuidad de los alimentos son preocupaciones de carácter mundial, ya que garantiza que todas las personas tengan acceso a alimentos suficientes, seguros y nutritivos (1,2). Sin embargo, esto se ve afectado por diversos factores, uno es la contaminación de los alimentos causada por agentes microbiológicos, químicos y parásitos. En el Perú los organismos encargados del control de los alimentos y productos agrarios son el SENASA y DIGESA, ambos organismos nacionales se encargan de proteger la salud pública, pero desde un ámbito y enfoque distinto (3,4).

Asimismo, surge una preocupación directa con la resistencia a los antibióticos, este es un problema de salud pública mundial, catalogado por la OMS como una de las mayores amenazas para la salud mundial, el desarrollo y la seguridad alimentaria (5,6). En la actualidad los antibióticos son los medicamentos más esenciales en la salud humana y veterinaria. Por lo contrario, el constante uso extensivo e inadecuado por parte del sector avícola, acelero el desarrollo de bacterias resistentes (7,8). Estas bacterias y los genes que conllevan pueden transmitirse a los humanos mediante el consumo de alimentos contaminados, exposición ambiental o el contacto directo con los animales, lo que provoca limitantes en terapias cuando sucede una infección común y causante aumenta los costos sanitarios (9,10).

Entre los antibióticos de mayor relevancia clínica se encuentran los β -lactámicos, aquí se encuentra antibióticos como: carbapenems, penicilinas, monobactams y cefalosporinas, son ampliamente usados por su baja toxicidad y un bajo costo (11). Sin embargo, debido a la producción de genes de resistencia sintetizan enzimas que inhiben los antibióticos β -lactámicos. Estas enzimas como las β -lactamasas de espectro extendido (ESBL), carbapenemasas, les otorga una resistencia a los antibióticos β -lactámicos incluyendo a la última generación (7).

La carne de pollo es uno de los productos de mayor consumo a nivel mundial y preferido por la sociedad peruana por su accesibilidad económica y valor nutricional (12). El alto consumo más el uso de antibióticos en el cuidado del pollo o promoviendo su crecimiento y contaminación cruzada en la cadena de producción, como consecuencia la carne se volvería un reservorio para bacterias resistentes y con presencia de genes de resistencia (13,14). Diversos estudios realizados en el mundo han reportado presencia de bacterias como *Escharichia coli*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* y *Aeromonas spp.*, portadores de genes de resistencia en la carne de pollo para el consumo humano (14–18).

En la ciudad de Arequipa, con un alto consumo de la carne de pollo, la información sobre la caracterización molecular en los genes de resistencia a β -lactámicos en las bacterias aisladas del producto en mercados mayoristas es limitada. La identificación de estos genes de resistencia y en especial genes de gran relevancia clínica (blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaCMY, blaMOX, blaPER-2, blaNDM, blaVIM y blaOXA-48), siendo información necesaria para la salud pública y sector de producción.

El presente trabajo se usó dos técnicas principales, la primera en la identificación de colonias bacterias basado en la Espectrometría de Masas por Desorción/Ionización Láser Asistida por Matriz con analizador de Tiempo de Vuelo (MALDI-TOF MS), se basa en la identificación de microorganismos con el uso de una matriz (MS-CHCA), generando un perfil proteico de acuerdo a cada especie y es comparado con una base de datos, VITEK® MS Plus/RUO SARAMIS, para su correcta identificación. La segunda técnica es para la identificación de genes de resistencia a β -lactámicos usando la técnica de PCR convencional; mediante el uso de primers específicos para la presencia de los genes y la lectura de los productos de PCR mediante la electroforesis.

Hipótesis.

Dado el uso de antibióticos en la crianza de pollos y el consumo de pollo eviscerado en la región de Arequipa, es posible encontrar bacterias con genes de resistencia a β -lactámicos en las muestras de carne de pollo.



Objetivos

Evaluar los genes de resistencia a β -lactámicos aislados de bacterias muestras de pollo para el consumo humano en mercados de Arequipa 2024.

Objetivos secundarios.

1. Obtener muestras de pollo en mercados de Arequipa (Acomare, Mercado Nueva Esperanza y Mercado San Camilo) en el año 2024.
2. Aislar bacterias presentes en muestras de carne de pollo.
3. Identificar las colonias bacterianas mediante la técnica de Espectrometría de masas por desorción láser asistida por matriz, ionización y tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS).
4. Detectar genes de resistencia a β -lactámicos (blaCTX-M1, blaCTX-M15, blaCMY, blaTEM, blaPER-2, blaNDM, blaMOX, blaVIM y blaOXA-48) mediante PCR convencional.

Tabla de Variables e Indicadores

Variables	Variable	Indicadores	Unidades
Independientes	Parte del Pollo	-	-
	Mercados	-	-
Dependientes	Tipo de bacteria	MALDI-TOF MS	Especies
	Presencia de genes de resistencia	PCR, Gel de electroforesis	-



Capítulo I.

Marco Teórico.

1.1 Seguridad alimentaria

El término de “Seguridad Alimentaria” surge en 1970 a causa de malas cosechas que provocaron escasez y aumento de precios en los alimentos, sin olvidar las consecuencias que habían dejado las dos guerras mundiales además la confrontación de la guerra fría con oriente y occidente, más aún involucrándose temas de riesgo en la agricultura como: biológicos, climáticos y sobre todo sanitarios. De esta manera, surge el planteamiento de la seguridad alimentaria, asociándose con temas como la disponibilidad y existencia de los alimentos, como motivo de la garantía que existen alimentos necesarios para alimentar a la población mundial (19). Sin embargo, no fue hasta el año de 1996 en la Cumbre Mundial sobre la Alimentación, donde se abordó sobre Seguridad Alimentaria y tocando el tema de su definición, lo que llevaría a plantearse que la “Seguridad Alimentaria” existe cuando: todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos, satisfaciendo necesidades energéticas diarias y preferencias alimentarias, garantizando que la población lleve una vida activa y sana (20).

Sin embargo, en el año 2011, se añadió una nueva definición al concepto de “Seguridad Alimentaria”, siendo la FAO quien acoplado el término de “Seguridad Nutricional”, integrando ambos términos en uno solo: Seguridad Alimentaria y Nutricional. Esta nueva definición también incluyó cuatro pilares de la Seguridad Alimentaria (9):

i. Disponibilidad física de alimentos:

La disponibilidad de alimentos se centra en el tema de oferta y demanda de la población. Este pilar de la seguridad alimentaria está determinado por la producción de alimentos, los niveles de subsistencia y la comercialización neta.

ii. Acceso económico y físico a los alimentos

El acceso económico a los alimentos y su suministro a nivel nacional e internacional no garantiza la seguridad alimentaria en los hogares. No obstante, para lograr la seguridad alimentaria en los hogares es necesario un acceso física y económica a los alimentos, lo cual incluye el factor sociocultural de cada persona y sociedad. Estos factores permiten

evaluar si el alimento es socioculturalmente aceptable y si se brinda protección social a familias de bajos recursos económicos.

iii. Utilización de los alimentos

Una alimentación con cantidades y calidad adecuada permite la subsistencia de la sociedad. No obstante, en este nivel también es crucial el consumo de agua segura y limpia. Todo esto tiene como objetivo asegurar que las personas tengan una ingesta suficiente de energía y nutrientes necesarios, resultando en buenas prácticas de cuidado y alimentación.

iv. Estabilidad de los otras tres magnitudes

Los tres puntos se resumen en la capacidad de una nación o país, la comunidad o sociedad y el hogar. Asimismo aunque se presente una ingesta de alimentos adecuada, aun se sufre de inseguridad alimentaria ya que si se tiene un acceso inadecuado a los alimentos de forma continua, daría como consecuencia el deterioro nutricional de las personas, afectando la salud individual y colectiva de una sociedad.

La seguridad alimentaria es un derecho humano básico, ya que millones de personas en el mundo se exponen al riesgo de consumir alimentos insalubres, lo que provoca fuertes infecciones o incluso el fallecimiento. Sin embargo, cuando se consume alimentos inocuos, la sociedad experimenta una mejoría en la salud, destacando el crecimiento económico de la región donde se practica las inocuidades alimentarias. Asimismo, se espera que para el año 2050, la población mundial alcance los 9.7 mil millones de personas, lo que provocará desafíos cada vez mayores que garanticen alimentos nutritivos, saludables y sobre todo seguros para la población. Además, los consumidores demandan seguridad y calidad de los productos. Por otra lado, los consumidores confían en que sus gobiernos garanticen no solo la seguridad de todos sus alimentos, sino también se comercialicen de acuerdo a lo que se indica (6,21).

1.1.1 El termino Food Safety

Existen dos términos necesarios para el entendimiento de seguridad alimentaria, **Food security** y **Food safety**, ambos se traducen como seguridad alimentaria. Sin embargo, la FAO los define como la garantía que se brinda a los consumidores que los alimentos no originen ningún tipo de daño o enfermedad, contribuyendo a una vida sana cuando hablamos de **Food safety**. En cambio **Food security** se refiere a la situación en la que toda la población tiene acceso físico, social y económico a alimentos suficientes,

inocuos y nutritivos, satisfaciendo las necesidades diarias y preferencias alimentarias (9,19). Aunque, cuando hablamos acerca de **Food safety** y las enfermedades transmitidas por los alimentos, recae su importancia en una pregunta: ¿Por qué no se detecta alimentos contaminados antes de que afecte a la población? Paralelamente, incluso con la cantidad de pruebas necesarias para asegurar que cada alimento está libre de contaminantes intencionales o incidentales, no se puede garantizar una inocuidad total (22). A nivel global la transmisión de toxinas y patógenos a través de alimentos contaminados puede ocurrir mediante las siguientes categorías (2):

a. Microbiológicas

Bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria*, *Vibrio cholerae* y *Campylobacter* son algunos de los patógenos más comunes que se encuentran en los alimentos. La distribución de estos patógenos se encuentra ampliamente en la alimentación diaria de las personas, tanto de áreas rurales como urbanas, siendo fuentes de contagio carnes poco cocidas, huevos, leche cruda, mala refrigeración y sus derivados como productor lácteos.

b. Virus

Entre los virus patógenos de transmisión alimentaria el más común es el virus de la hepatitis A. La transmisión de este virus ocurre principalmente a través del consumo de mariscos o productos contaminados.

c. Parásitos

Entre los parásitos transmitidos por alimentos se encuentran los trematodos y especies como: *Equinococo spp*, *Ascaris*, *Criptosporidium*, *Giardia* o *Entamoeba*, que son transmitidos por el suelo o el agua contaminando productos fresco.

d. Productos químicas

La contaminación alimentaria por productos químicos es un problema cada vez más presente en la vida cotidiana. Productos químicos como: pesticidas, herbicidas, fungicidas e insecticidas, utilizados en la agricultura, dejan residuos químicos en los alimentos. Además, existen toxinas presentes de manera natural y expuestas al consumo humano, como: las micotoxinas, glucósidos cianogénicos, hongos venenosos y biotoxinas marinas. Sin embargo, también existen otros compuestos como: las dioxinas y los bifenilos policlorados que son

subproductos de incineración o procesos industriales. Asimismo, está la contaminación por metales pesados como: el cadmio, mercurio y el plomo, siendo vías de contaminación el suelo, agua y aire.

1.1.2 Desafíos de Food Safety

Los alimentos insalubres representan una amenaza tanto para sectores específico de la población como a nivel mundial, siendo los niños, los jóvenes y los adultos mayores de la tercera edad los grupos más afectados y propensos a contraer infecciones por alimentos contaminados. Sin embargo, si bien “Food safety” está relacionado con una mejor nutrición, es fundamental establecer las bases para los desafíos de las próximas generaciones, abordando temas de interés como: seguridad microbiológica, higiene ambiental, higiene personal y seguridad química (21).

1.2 Food Safety en el Perú

Países de América como: Haití, Guatemala, Bolivia, Ecuador, Nicaragua y Perú, presentan una estratificación epidemiológica en la cual se observa una elevada mortandad adulta e infantil por consecuencia de enfermedades transmitidas mediante los alimentos. Perú, como país en desarrollo constante, tiene un sistema alimentario ampliamente distribuido en supermercados, tiendas y mercados, tanto formales como informales. En este último, las prácticas de higiene y saneamiento están poco reguladas, por lo que el sistema de producción alimentaria en el Perú tiene una gran carencia de estándares de control en los alimentos de consumo interno. Sin embargo, Food Safety en el Perú está regulada por dos entidades: DIGESA y SENASA, pertenecientes al Ministerio de Salud y Ministerio de Agricultura del Perú respectivamente, encargados de la inocuidad de los alimentos en el territorio peruano (23). Por otro lado, en el Perú existen leyes de inocuidad alimentaria, que se establecieron mediante el decreto N.º 1062-2008, que aprueba la Ley de Inocuidad de los alimentos en relación con el Codex alimentarius; en cuando a su cumplimiento, se rige por el decreto supremo N.º 034-2008, que tiene como objetivo salvaguardar la vida y la salud de las personas (24,25).

1.2.1 El papel de SENASA y DIGESA

SENASA fue creada por el decreto de Ley N.º 25902, es un organismo público descentralizado y la autoridad en sanidad agraria, con un sistema de vigilancia zoonosanitaria y fitosanitaria (26). En el ámbito de “Food Safety”, la función de SENASA es crucial en la higiene y producción agrícola, la seguridad alimentaria, y procesamiento

primario. Además, atiende a: productores agrícolas y miembros de la cadena accesibles a la industria agroalimentaria, consumidores y a las autoridades locales, correspondiendo de manera accesible, eficiente, efectiva y transparente (27). Por otro lado, DIGESA es el organismo técnico del MINSA, encargado de la higiene básica, la salud laboral, la protección del ambiente, la zoonosis y la higiene alimentaria (3). Asimismo, contribuye a la protección de la población instaurando condiciones sanitarias en almacenamiento de los alimentos con finalidad al consumo humano (4).

1.3 Zoonosis

La zoonosis, según la OMS, son enfermedades infecciosas transmitidas naturalmente de animales vertebrados a humanos (figura 1) (28). Representa un problema de salud pública a nivel mundial, ya que el 75% de las enfermedades zoonóticas se deben a la interconexión entre animales y humanos, comprendiendo ciclos zoonóticos. Asimismo, existen vías de transmisión, como: 1) el contacto directo o indirecto, 2) la ingestión de agua o alimentos contaminados y 3) el contagio a través de vectores hematófagos. Estos obedecen el principio de oportunidad y encuentro (29).

El Perú posee una gran variedad de fauna, lo que implica posibilidades de contagio zoonótico. Por ello, existe una vigilancia epidemiológica sobre estas transmisiones, ya sea por factores silvestres, domésticos o sinantrópicos. Sin embargo, existen factores antropogénicos, es decir, acciones humanas que afectan los ciclos zoonóticos, lo que resulta en una exposición a los agentes etiológicos y causa una emergencia y reemergencia de zoonosis, provocando una respuesta del sistema de salud. No obstante, la capacidad de los organismos para solucionar la situación dependerá de si el problema se presenta de manera inédita (30).

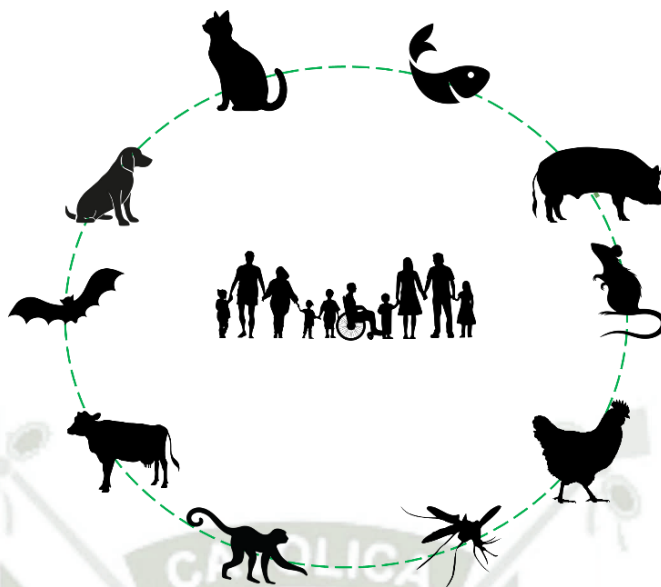


Figura 1. Animales que son capaces de transmitir enfermedades a los seres humanos.

Fuente: Elaboración propia.

1.4 *Gallus gallus domesticus*

El pollo domestico (*Gallus gallus domesticus*) tiene su origen la selva roja del Sudeste Asiático. aunque investigaciones sugieren que los pollos de esta región no poseían el gen responsable de la pigmentación amarilla de la piel, se considera que hibridaron con el *Gallus sonnaratii* (aves silvestres de Sri Lanka) y otras aves silvestres verdes (31,32).

Estas aves se crían principalmente por sus huevos y su carne, además de su fácil alimentación y el espacio que requieren (32). Su comportamiento de estas aves es gregario, es decir, han perdido su capacidad de volar ocasionado por la domesticación por el ser humano. Estas aves se alimentan de insectos y también se consideran omnívoras. Su reproducción ocurre desde el comienzo de la primavera hasta el verano, poniendo entre 8 a 12 huevos que son empollados por 21 días, hasta que eclosionan. Una vez que salen del cascarón se desarrollan en 10 semanas hasta que la madre los deja y alcanzando la madurez sexual en 5 meses (33).

1.4.1 Taxonomía

Según Al-Nasser et. al. 2007 (34) la clasificación del pollo se observa en la siguiente tabla 1:

Tabla 1. Clasificación taxonómica

Dominio	Eucariota
Reino	<i>Animalia</i>

Filo	<i>Chordata</i>
Subfilo	<i>Vertebrado</i>
Clase	<i>Aves</i>
Orden	<i>Galliformes</i>
Familia	<i>Phasianidae</i>
Subfamilia	<i>Phasianiae</i>
Género	<i>Gallus</i>
Especie	<i>Gallus gallus</i>
Subespecie	<i>Gallus gallus domesticus</i>

1.4.2 Valor nutricional

La carne de pollo, por ser un alimento accesible tanto económicamente y de fácil crianza, presenta ventajas sobre otras carnes al ofrecer una nutrición equilibrada, que ayuda a contrarrestando carencias nutricionales esenciales, especialmente en personas de bajos recursos económicos (35). El perfil nutricional de la carne de pollo se caracteriza por su alto valor biológico de proteínas, una baja concentración de lípidos donde sobresale las grasas insaturados, y una amplia variedad de minerales y vitaminas. Todos estos compuestos se detallan en la siguiente tabla (36,37):

Tabla 2. Composición nutricional de la carne de pollo.

Composición nutricional	Cada 100 g contiene
Energía (Kcal)	167
Proteínas (g)	20
Lípidos totales (g)	9.7
AG saturados (g)	2.63
AG monoinsaturados (g)	4.37
AG poliinsaturados (g)	1.82
Omega-3 (g)	0.282
Omega-6 (g)	1.502
Colesterol (mg/1000 Kcal)	110
Hidratos de carbono (g)	0
Fibra (g)	0
Agua (g)	70.3
Calcio (mg)	13
Hierro (mg)	1.1
Yodo (mg)	-
Magnesio (mg)	22
Zinc (mg)	1
Sodio (mg)	64
Potasio (mg)	248
Fosforo (mg)	198
Selenio (µg)	6
Tiamina (mg)	0.1
Riboflavina (mg)	0.15
Equivalentes niacina (mg)	10.4

Vitamina B6 (mg)	0.3
Folatos (μg)	10
Vitamina B12 (μg)	Trazas
Vitamina C (μg)	0
Vitamina A (μg)	Trazas
Vitamina D (μg)	Trazas
Vitamina E (μg)	-

1.4.3 El pollo en el consumo peruano

El consumo de pollo a nivel global ha experimentado un crecimiento, impulsado por el desarrollo demográfico y los procesos de urbanización de las ciudades, lo que a su vez ha favorecido al sector avícola (38). El sector avícola produce principalmente carne de pollo, gallina, pato y pavo. Su desarrollo se ve favorecido por su aspecto económico, bajo costo de crianza y facilidad de alimentación, lo que impulsa tanto negocios familiares como empresariales. Debido a esto, el consumo de carne de pollo en los últimos 30 años en el Perú ha mantenido un crecimiento sostenible, siendo el preferido e indispensable por la canasta básica familiar, ocupando el 53% en su consumo, seguido del pescado (31%), vacuno (8%), porcino (6%) y ovino (2%) (12).

El consumo per cápita de pollo, según estimaciones del Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, estimo que durante el año 2022 hubo un consumo de pollo de 56.00 Kg/hab., en el año 2023 hubo un consumo de 52.35 Kg/hab. y para el año 2024 se consumió 53.75 Kg/hab. Además, la producción de pollo entre el mes de Enero de 2022 y Diciembre de 2023 fue de 2057.1 y 2027.4 toneladas respectivamente (39). No obstante, en la producción de pollo del mes de Enero 2023 a Febrero del 2024, hubo una producción de 312.6 y 306.6 toneladas de pollo respectivamente (40).

1.4.4 Organismos en el deterioro de la carne de pollo

El deterioro de la carne es el proceso activo por la cual pasa de estar en condiciones de consumo deseable a indeseable para el consumo humano, y se debe a procesos físicos (pérdida de textura junto y cambios en la apariencia) y químicos. Aunque el deterioro de la carne es imposible de evitar, pese a que se apliquen normas de higiene o la inactivación de los microorganismos (41), esta representa un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos por ser una fuente rica en nutrientes y con una alta cantidad de agua; estos microorganismos, en conjunto, se denominan microbiota. Sin embargo, la calidad microbiológica de la carne de pollo se ve afectado por malos

manejos durante la captura, el transporte, el procesamiento y almacenamiento, contaminándose a través de heces, piel, agua, instrumentos y el propio personal, resultando en una contaminación cruzada. Todos estos factores ocasionan que la carne de pollo se deteriore, y como consecuencia del deterioro existen dos grupos de bacterias: organismos asociados al deterioro (SAO) y organismos específicos de deterioro (SSO) (16,42).

Los SAO están representados por géneros bacterianos como: *Aeromonadaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Leuconostocaceae*, *Listeriaceae*, *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Staphylococcaceae* y *Shewanellaceae*. Sin embargo, el grupo SSO, además de caracterizarse por su lento crecimiento, también se encuentra constituido por una fracción de los géneros previamente mencionados y se consideran el principal origen del deterioro de los alimentos (16). No obstante, el deterioro no solo se debe a la presencia de las bacterias en la carne, sino también a sus procesos metabólicos, lo que resulta en la producción de metabolitos dañinos para el consumo humano (aminas, aldehídos, alcoholes, cetonas e indoles). Asimismo, se considera que una carne en completo deterioro cuando alcanza entre 10^6 y 10^9 UFC/g (43).

1.4.5 La resistencia en los antibióticos transmitida en los alimentos

Los residuos antimicrobianos presentes en los alimentos representan un problema para la salud humana y se están transmitiendo a través de ellos (figura 2). Estos ya han sido aislados de las principales bacterias causantes de enfermedades transmitidas en los alimentos, tales como: *Escherichia coli*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp* (44). Sin embargo, el uso de antibióticos en la crianza de animales es el doble del que se usa en humanos, sumando el aumento en la demanda del consumo de carne, estos factores podrían ocasionar que el uso de antibióticos aumente hasta 110 mil toneladas para el año 2030 (45,46). En la actualidad, entre el 50% y el 80% de los antibióticos utilizados en animales para el crecimiento, desarrollo y estimulación del sistema inmune para la prevención o tratamiento de infecciones bacterianas, solamente el 75% no son absorbidos y son excretados en forma de orina o heces de los animales, lo que resulta en la contaminación del medio ambiente y la cadena de producción. No obstante, el uso constante de antibióticos ha llevado al desarrollo de resistencia y genes de resistencia en diversas bacterias, los cuales pueden transmitirse entre animales y humanos, generando como efecto un desbalance de la microbiota intestinal (45,47).

El sector avícola es uno de los sectores con un crecimiento constante y en aumento dentro de la agricultura. Además, tanto en países en desarrollo y desarrollados consumen la carne de pollo de manera predominantemente sobre otras carnes (14,46). Debido al aumento en el consumo de esta carne, diversos grupos de antibióticos son usados para el control de infecciones y enfermedades en las aves, algunos de estos antibióticos son: aminoglucósidos, fluoroquinolonas, lipopéptidos, lincosamidas, macrólidos, sulfonamidas, penicilinas, quinolonas, tetraciclinas y beta-lactámicos (13,14,45). Además de poder presentarse diferentes tipos de resistencia dependiendo del producto alimenticio.

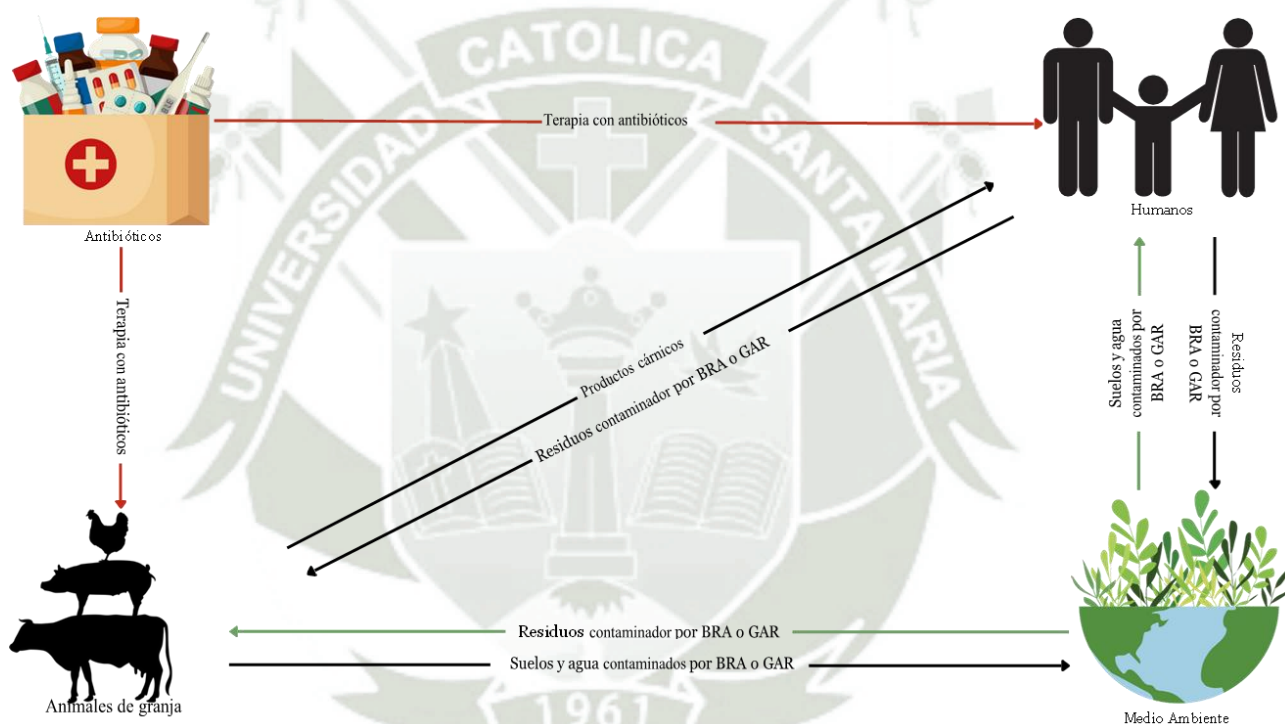


Figura 2. Representación gráfica del uso de los antibióticos y la interconexión en el ecosistema. BRA: Bacterias Resistentes a los Antibióticos; GAR: Genes de Resistencia a los Antibióticos.

Fuente: Elaboración propia.

1.5 Taxonomía de especies aisladas de la carne de pollo

1.5.1 *Aeromonas*

Aeromonas es una bacteria gramnegativa con forma bacilar no formadores de espora, son anaerobios facultativos, en general son positivos a catalasa y oxidasa, fermenta la glucosa, degradan los nitratos a nitritos, positivos a la enzima citocromo oxidasa. Presentan movilidad, su temperatura de incubación abarca desde los 37 a 44 °C, sus colonias son circulares y varían de acuerdo al agar (48,49).

1.5.1.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Aeromonas* es según (48–50) en la siguiente tabla:

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Aeromonas*.

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Pseudomonadati</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Aeromonadales</i>
Familia	<i>Aeromonadaceae</i>
Género	<i>Aeromonas</i>
Especie	<i>Aeromonas</i> sp <i>A. punctata (caviae)</i> <i>A. sobria</i> <i>A. veronii</i> <i>A. allosaccharophila</i> <i>A. aquatica</i> <i>A. aquatilis</i> <i>A. australiensis</i> <i>A. caviae</i> <i>A. enteritica</i> <i>A. fluviales</i> <i>A. hydrophila</i> <i>A. intestinalis</i> <i>A. media</i> <i>A. salmonicida</i> <i>A. sobria</i>

1.5.2 *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria gramnegativa no formadora de spora y anaerobio facultativo, con forma bacilar, tiene motilidad debido a la presencia de flagelos, son fermentadores de lactosa y glucosa en agar MacConkey (pueden fermentar rápido o de manera lenta) y en agar EMB (Eosina Azul de Metilino) tiene un color característico de la especie que es un brillo verde metálico debido a la producción de ácidos. Son indol positivo, oxidasa negativa, su temperatura de incubación óptima es de 37 °C (51,52).

1.5.2.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *E. coli* se clasifico según (50,51) en la siguiente tabla:

Tabla 4. Clasificación taxonómica de *E. coli*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Pseudomonadati</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>

Orden	<i>Enterobacterales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. albertii</i>
	<i>E. coli</i>
	<i>E. fergusonii</i>
	<i>E. marmotae</i>
	<i>E. ruysiae</i>
	<i>E. whittamii</i>

1.5.3 *Morganella morganii*

M. morganii es una bacteria gramnegativa con forma bacilar, son anaerobios facultativos, no son formadores de esporas, presentan movilidad. Hidroliza la urea, no fermenta la lactosa, oxidasa negativo, indol positivo, crecen a una temperatura optima de 37 °C (53,54).

1.5.3.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *M. morganii* se clasifico según (50,55) en la siguiente tabla:

Tabla 5. Clasificación taxonómica de *M. morganii*.

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Pseudomonadati</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacterales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Morganella</i>
Especie	<i>M. morganii</i>
	<i>M. psychrotolerans</i>

1.5.4 *Proteus mirabilis*

P. mirabilis es una bacteria gramnegativa no formadores de esporas, forma bacilar, es anaerobio facultativo, presenta movilidad tipo enjambre (swarming) viéndose en la placa en formas de onda, es decir que, se mueven en grupos coordinados debido a sus flagelos, producen ácido sulfúrico en TSI, lactosa negativa, indol negativo. Crecen a una temperatura optima de 37 °C (53,56).

1.5.4.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *P. mirabilis* se clasifico según (50,53) en la siguiente tabla:

Tabla 6. Clasificación taxonómica de *P. mirabilis*.

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Pseudomonadati</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacterales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Proteus</i>
Especie	<i>P. alimentorum</i> <i>P. cibi</i> <i>P. columbae</i> <i>P. faecis</i> <i>P. huaseri</i> <i>P. mirabilis</i> <i>P. myxofaciens</i> <i>P. penneri</i> <i>P. terrae</i> <i>P. vulgaris</i>

1.5.5 *Providencia alcalifaciens* y *rettgeri*

P. alcalifaciens y *rettgeri* son bacterias gramnegativas con forma de bacilos, no son formadores de esporas, tiene movilidad debido a la presencia de flagelos, son anaerobios facultativos, ambas bacterias no fermenta la lactosa, indol positivo, no producen ácido sulfurico, son citrato positivo. La temperatura optima de crecimiento es de 37 °C (53).

1.5.5.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *P. alcalifaciens* y *rettgeri* se clasifico según (50,53) en la siguiente tabla:

Tabla 7. Clasificación de *P. alcalifaciens* y *rettgeri*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Pseudomonadati</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacterales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Providencia</i>
Especie	<i>P. alcalifaciens</i> <i>P. burhodogranariea</i> <i>P. hangzhouensis</i> <i>P. heimbachae</i> <i>P. huashanensis</i> <i>P. huaxiensis</i> <i>P. manganoxydans</i> <i>P. rettgeri</i> <i>P. rustigianii</i> <i>P. sneebia</i> <i>P. stuartii</i> <i>P. thailandensis</i>

P. vermicola
P. xianensis
P. zhijiangensis

1.6 Enfermedades que causan las especies aisladas del pollo

Las bacterias aisladas del pollo pertenecen principalmente a dos familias importantes que pueden causar enfermedades en los seres humanos: *Enterobacteriaceae* y *Aeromonadaceae* (57,58).

La familia de *Enterobacteriaceae* es un grupo predominante que se encuentra en productos avícolas y ganaderos. Entre las principales bacterias patógenas se incluyen: *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, entre otras. Estas bacterias pueden transmitirse a través de los alimentos, causando enfermedades y presentando resistencia a los antibióticos. Por otro lado, la familia de *Aeromonadaceae* presenta una amplia distribución geográfica y puede causar infecciones tanto en humanos y en animales, las infecciones pueden llegar a ser sistémicas o localizadas, incluso tras el contacto de estas bacterias con otras especies. Las bacterias de esta familia poseen una gran habilidad de desarrollarse en diferentes entornos ecológicos, incluso en condiciones ambientales desfavorables (57,58).

1.6.1 Enfermedades que causa *Aeromonas*

Las especies del género *Aeromonas* se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente, en peces, en animales y en humanos. Se han reportado infecciones sistémicas o localizadas en aves de corral. Además, la infección en humanos causada por estas bacterias se conocer como aeromoniasis. Presenta especies de gran relevancia clínica como: *A. caviae* (antes *A. punctata*), *A. sobria*, *A. veronii*, *A. hydrophila* y *A. media*. La transmisión de este género ocurre principalmente a través de alimentos contaminados, especies como *A. hydrophila*, *A. sobria* y *A. caviae* son patógenos emergentes transmitidos por alimentos, que causando enfermedades gastrointestinales y gastroenteritis humanos. Otro tipo de infecciones que causa *Aeromonas* son las infecciones de heridas, que ocurren cuando las personas se accidentan y generan alguna lesión o exponen esta lesión en ambientes acuáticos. La contaminación por esta vía puede llegar al desarrollo de: mionecrosis, ectima gangrenoso, celulitis, osteomielitis y casos de gangrena (59,60).

Sin embargo, se ha reportado en el año 2023, en Ecuador, que *A. veronii* causo neumonía, aunque esta especie no se involucra con esta enfermedad a comparación de

las especies comunes como: *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *K. pneumoniae*, siendo este un caso poco frecuente (61).

1.6.2 Enfermedades que causa *E. coli*

La infección por *E. coli* en humanos ocurre por contaminación a través del vertido de efluentes, tratamiento de aguas residuales (tanto medicas como industriales) o la fuga de residuos y fosas sépticas. Además, factores ambiental como los desechos de mascotas, estiércol de otros animales y animales de vida silvestre también contribuyen a la contaminación (62).

Las enfermedades causas por *E. coli* en humanos dependen de las diferentes cepas involucradas en la infección, por ejemplo: la cepa patógeno extraintestinal (ExPEC) *E. coli*, causa infecciones fuera del tracto intestinal, provocando ITU, infecciones en heridas, sepsis y meningitis. Sin embargo esta bacteria es distinta a las comensales, como: **a)** *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), que causa diarrea acuosa de leve a severa en niños en países en desarrollo; **b)** *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), una cepa altamente invasiva que provoca daño a las paredes intestinales y fiebre; **c)** *E. coli* enteropatógena (EPEC), presenta más en niños provocando diarrea y vómitos seguido de fiebre y deshidratación; **d)** *E. coli* enteroagregante (EHEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* enterohemorrágico (VTEC). Estas cepas causan un espectro de síntomas que van desde una diarrea leve hasta sanguinolenta con fiebre, vómitos o calambres abdominales, puede llegar a causar HUS. La cepa STEC es una cepa evolucionada que tiene una combinación genética con la bacteria *Shigella spp.* mediante la transferencia de genes horizontal/lateral; **e)** *E. coli* difusamente adherente (DAEC), cuyas infecciones pueden causar colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn (afectan al tracto gastrointestinal) o provocar una ITU; **f)** *E. coli* aviar patógeno (APEC), causante de colibacilosis, como septicemia, celulitis, etc causas en animales; **g)** *E. coli* adherente-invasivo (AIEC), esta infección invade las células epiteliales, se adhieren a los macrófagos para replicarse y sobrevivir, normalmente se asocia a la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (62–65).

1.6.3 Enfermedades que causa *M. morganii*

M. morganii se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente, en el tracto intestinal de humanos y animales, formando parte de la flora normal. Esta bacteria es un patógeno oportunista, que puede causar ITU, infecciones en heridas, shock séptico, osteomielitis,

derrames articulares, sepsis, aneurisma aórtico, meningitis, pancreatitis, síndrome de Waterhouse-Friderichsen, piomiositis úlcera, fascitis necrotizante, neumonía, pericarditis, bacteriemia, síndrome de la bolsa de orina purpura y pielonefritis. La entrada de esta bacteria al cuerpo puede darse por la piel, vías hepatobiliares, sangre y tejidos blandos. *M. morganii* está adquiriendo una gran relevancia clínica debido a sus factores de virulencia y la MDR que presentan, lo que puede resultar en tratamientos ineficaces y, en consecuencia, en el fallecimiento del paciente (54,66).

1.6.4 Enfermedades que causa *P. mirabilis*

P. mirabilis se encuentra distribuido en el suelo, aguas residuales, fuentes de agua, tracto intestinal de animales y humanos. Esta bacteria es un patógeno oportunista que afecta especialmente a pacientes inmunocomprometidos. *P. mirabilis* es la especie más prevalente, causante de diversas infecciones como: heridas, sistema urinario, regiones oculares y el tracto gastrointestinal. Sin embargo, esta especie es la tercera causa más común de ITU y la segunda causa más frecuente de CAUTI, en consecuencia, los pacientes que sufren estas infecciones por *P. mirabilis* pueden desarrollar complicaciones como la formación de cálculos vesicales y renales, lo que puede llevar a daño renal permanentes. También causa enfermedades como: mastoiditis, otitis media, osteomielitis, artritis reumatoide, queratitis, meningoencefalitis hemorrágica, enfermedad de Crohnns, meningitis neonatal, y encefalopatía hepática (17,67–69).

1.6.5 Enfermedades que causa *P. alcalifaciens* y *rettgeri*.

P. alcalifaciens y *rettgeri* son bacterias patógenos oportunistas, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Estas bacterias se encuentran comúnmente en aguas residuales, suelos y aguas. Aunque *P. alcalifaciens* se considera parte de la flora normal presente en las heces, tanto en humanos como en otros mamíferos, aves de corral, vacas y perros. Asimismo *P. rettgeri* es una especies común causante de infecciones nosocomiales, destacándose por provocar ITU, meningitis, neumonía, infecciones en heridas, endocarditis y puede causar una infección en el torrente sanguíneo. Por otro lado, *P. alcalifaciens* causa diarrea acuosa, dolores abdominales, fiebre y vómitos o a veces tenesmo. Sin embargo, se ha demostrado que estas bacterias tienen resistencia a antimicrobianos y MDR (70–73).

1.7 Los antibióticos

Si bien los antibióticos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, la historia de su descubrimiento se remonta a 1928 con el hallazgo accidental de la penicilina por Sir Alexander Fleming, al observar que el moho, *Penicillium notatum*, inhibía el desarrollo de las colonias de estafilococos presentes en una placa de Petri (74). Si bien la penicilina fue uno de los mayores descubrimientos, su utilidad inicial fue limitada ya que solo funcionaba contra las bacterias grampositivas. Sin embargo, este descubrimiento dio luz a otra por Selman Waksman en 1940, cuando descubrió la estreptomicina, obtenida de la *Streptomyces griseus*. La estreptomicina representó el primer tratamiento exitoso contra la tuberculosis y también demostró eficacia contra bacterias gramnegativas, marcando el inicio de la “era dorada de los antibióticos” que se extendió aproximadamente desde la década de 1950 hasta 1960 (75).

El descubrimiento de la estreptomicina impulsó la plataforma de Selman Waksman, que sentó las bases para el descubrimiento de nuevos antibióticos a partir de microorganismos presente en el suelo. La plataforma de Waksman se basaba en la premisa de que una bacteria patógena podría ser sensible a compuestos producidos por otras bacteria del suelo (76). A pesar de este método de investigación, se redescubrieron compuestos como: el cloranfenicol, aminoglucósidos, β -lactámicos, macrólidos y tetraciclinas. También se desarrollaron hallazgos de antibióticos sintéticos como: pirazinamida, etambutol e isoniazida, además del descubrimiento de un antibiótico de amplio espectro (metronidazol). No fue hasta 1960 que se descubrió el ácido nalidíxico, que actúa contra *E. coli*, aunque sus efectos no eran tan potentes, sus análogos fluorados atacan a la topoisomerasa y la ADN girasa (77).

1.7.1 En papel de los antibióticos en las infecciones y resistencia

Antes de la introducción de los antibióticos, las enfermedades provocadas por infecciones han sido una de las principales causas de muerte en el mundo. Hoy en día, los antibióticos son empleados para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas. Asimismo, la medicina moderna depende en gran medida de los antibióticos, ya que en su uso es necesario para la recuperación y estabilidad de pacientes en diversas intervenciones quirúrgicas como: trasplantes de medula ósea y órganos, cirugías abdominales y pacientes inmunocomprometidos, es necesario el uso de antibióticos para la recuperación y estabilidad del paciente (78). Sin embargo, aunque su descubrimiento ocurrió en 1928, con el tiempo y el uso del antibiótico, se reportó la primera resistencia en 1940 y en 1948 se informó el primer ensayo clínico controlado

para un medicamento (estreptomocina). La respuesta inicial a este problema fue la búsqueda de nuevos antibióticos para combatirlos (75). No obstante, debido al aumento de resistencia a los antibióticos, actualmente se están desarrollando nuevas investigaciones y avances en el descubrimiento de antibióticos. A su vez, se busca controlar la administración y la dosis adecuada en los pacientes, así como limitar la venta de los antibióticos sin prescripción médica (79). Aunque, en la actualidad la OMS está advirtiendo la escasez de antibióticos y el surgimiento de nuevos mecanismos de resistencia, propagándose globalmente (80).

Por otro lado, en respuesta a los problemas de resistencia a los antibióticos que enfrentan diversos países, se planteó el enfoque de One Health. Este enfoque busca la integración del bienestar humano, animal y del medio ambiente, reconociendo que estos tres aspectos deben vincularse para combatir eficazmente el problema de la resistencia (8). El enfoque “One Health” se originó a partir del término de “zoonosis”, es decir cuando se encontró el vínculo entre la salud humana y animal (10).

Actualmente, la resistencia a los antibióticos se considera una de las principales causas de muertes a nivel mundial. Sin embargo, cuando las bacterias poseen resistencia a múltiples antibióticos, se desarrollan complicaciones que involucran (80):

- La falta de tratamientos adecuados para los pacientes.
- Un mayor índice de infecciones a la población.
- Los antibióticos de primera generación son cada vez poco eficientes, lo que obliga a recurrir a medicamentos de segunda o tercera generación que son más caros y peligrosos afectando la economía de la población.
- Países con pocos recursos económicos son afectados por no tener acceso a los antibióticos de tercera o cuarta generación
- Si cada vez se pierde el potencial de los antibióticos las operaciones o intervenciones quirúrgicas se verán afectadas y se volverán riesgosas.

El desarrollo de bacterias resistencia a los antibióticos se incrementa en condiciones clínicas, en la agricultura y en la población. Hay dos tipos de resistencia bacteria (7):

a) Resistencia innata o natural

Conocida también como resistencia primaria. Es una de las resistencias características de un grupo de bacterias, cepa o de una especie. Este tipo de resistencia puede estar asociada a la falta de algún receptor en la bacteria para el

fármaco (antibiótico), producción de enzimas, impermeabilidad de la pared celular o una baja afinidad (7,81).

b) Resistencia secundaria o adquirida

Este tipo de resistencia se origina cuando la bacteria se expone al antibiótico, esta puede presentarse mediante una mutación o por la adquisición de nuevos genes (También conocida como resistente intermediada por plásmidos) (81).

1.8 Mecanismos de resistencia bacteriana

Los diversos mecanismos de resistencia bacteriana son adaptaciones que permiten a las bacterias sobrevivir y evolucionar ante la exposición a antibióticos(82):

1.8.1 Mutaciones en el sitio objetivo

Cada antibiótico tiene un receptor específico en la bacteria. Sin embargo, este sitio puede verse afectado por mutaciones, lo que reduce la afinidad del antibiótico y resulta en resistencia bacteriana. Estas mutaciones pueden favorecer un aumento de expresión de bombas de eflujo y proteínas (8).

1.8.2 Mutaciones genéticas

Las mutaciones de este tipo surgen en el cromosoma bacteriano y se transmiten a la siguiente generación bacteriana como respuesta a la exposición constante al antibiótico. Las mutaciones pueden ocurrir por cinco mecanismos: adición, duplicación, eliminación, inversión y sustitución. Además, la transferencia de plásmidos permite la transmisión de información importante para la descendencia o al organismo huésped, lo que contribuye a la expresión de la resistencia (8).

1.8.3 Transferencia horizontal de genes (HGT)

La transferencia horizontal de genes (HGT) fomenta la resistencia, evolución y la conservación de bacterias patógenas. Este tipo de transferencia es particularmente peligrosa, ya que involucra el intercambio de información genética entre diferentes especies bacterianas. Esta transferencia ocurre a través de: **la conjugación**, donde el material genético es transferido mediante pili o adhesión a la superficie bacteriana. **La transformación**, que permite la obtención e integración de ADN externo de bacterias muertas, ingresando en pequeños fragmentos de ADN que son correspondientes al género, lo que hace posible una combinación del material genético de diferentes bacterias; y **la transducción**, donde un bacteriófago actúa como vector transportando

fragmentos de ADN de una bacteria a otra, aunque este intercambio generalmente entre bacterias del mismo género (8,82,83).

1.8.4 Formación de Biofilms

Este mecanismo está relacionado con el estado metabólico de la bacteria, que forma un biofilm, es un conglomerado de bacterias unidas a una matriz extracelular producidas por ellas mismas, que las protege: de los antibióticos, el sistema inmunológico (fagocitos), deshidratación y luz UV. En este biofilm existe una comunicación bacteriana llamada quórum sensing, que permite una expresión genética coordinada (8,82).

1.8.5 Inactivación enzimática

La inactivación enzimática se basa en la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Algunas de estas enzimas son: beta-lactamasas, penicilinasas, oxacilinas, cefalosporinas, etc. (8,82).

1.8.6 Respuesta Stringert

La respuesta stingert (también llamada punto o spot mágico) consiste en el aumento de la alarmona (p)ppGpp, que ayuda a la bacteria a sobrevivir y adaptarse a ambientes estresantes. Este mecanismo se activa ante la escasez de nutrientes y la exposición a antibióticos, alterando el crecimiento y replicación bacteriana, y redirigiendo los recursos a la expresión de genes, formación de biofilm y activación de las bombas de eflujo, lo que aumenta la tasa de supervivencia bacteriana (8,84).

1.8.7 Permeabilidad alterada

Este mecanismo implica cambios en la membrana bacteriana que afecta la entrada de antibióticos. Estos cambios se producen en el número y diámetro de las porinas, impidiendo el acceso del antibiótico al interior de la bacteria (8,82).

1.8.8 Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo son proteínas presentes en la membrana cuya función es expulsar los antibióticos presentes intracelularmente, reduciendo las concentraciones del fármaco y disminuyendo su eficacia (8,82).

1.9 Mecanismo de acción de los antibióticos

Los mecanismos de acción de los antibióticos se dividen en (85):

1.9.1 Inhibición de la síntesis de la pared celular

Este mecanismo se divide en dos grupos de antibióticos: el primero inhibe directamente la síntesis de la pared celular, mientras que el segundo grupo, los antibióticos glucopéptidos, actúan indirectamente sobre la polimerización peptidoglicano, componente primario de la pared celular.

El primer grupo de antibiótico pertenece a los beta-lactámicos, que impiden la síntesis de la pared bacteriana. En comparación, el segundo grupo inhibe la síntesis de la pared bacteriana, al bloquear la biosíntesis de peptidoglicanos en bacterias grampositivas.

1.9.2 Inhibición de síntesis de proteínas

Una gran cantidad de antibióticos actúan inhibiendo la síntesis de proteínas, aprovechando las diferencias estructurales entre los ribosomas eucariotas y procariotas. La familia de antibióticos que actúan en este sitio incluye: los aminoglucósidos, las lincosamidas, los macrólidos, las oxazolidinonas, las estreptograminas B y las tetraciclinas.

1.9.3 Inhibición de síntesis de ácido nucleico

Los antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos incluyen las rifamicinas y quinolonas.

Las quinolonas actúan inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos mediante la alteración de dos enzimas esenciales: la topoisomerasa tipo II y IV. Actualmente existen cuatro generaciones de estos antibióticos.

La familia de rifamicinas, actúan inhibiendo la formación del ARN bacteriano al impedir el inicio de la actividad transcripcional, lo que provoca escasez en la síntesis de proteínas.

1.9.4 Interrupción en la membrana celular bacteriana

Aquí se encuentran grupos de antibióticos como las polimixinas y los lipopéptidos cíclicos.

Los antibióticos polimixinas inducen una inestabilidad química en la membrana bacteriana, ocasionando un aumento de la permeabilidad de la membrana externa y facilita el ingreso de otros antibióticos en bacterias gramnegativas. A

diferencias de los lipopéptidos cíclicos, su función es la de penetrar en la membrana interna, donde forman conductos que dañan la integridad de la membrana, lo que provoca la fuga de iones de sodio y potasio.

1.9.5 Alteración de procesos metabólicos

Algunos antibióticos también pueden obstruir las rutas metabólicas esenciales de las bacterias, como: las diaminopiridinas y las sulfonamidas. Estos antibióticos actúan inhibiendo la síntesis de folato, un factor esencial que algunas bacterias no pueden obtener de su entorno, lo que impide la producción de ADN bacteriano.

1.10 Los β -lactámicos

Los β -lactámicos (figura 3) son los antibióticos más ampliamente utilizados en medicina humana y veterinaria debido a su baja toxicidad y actividad bactericida (11,86,87). La estructura fundamental de los antibióticos β -lactámicos consiste en un anillo betalactámico, una estructura tetragonal de azetidina (88), formada por la ciclación de un grupo amida unido a tres átomos de carbono y uno de nitrógeno. La presencia o ausencia de un anillo heterocíclico (un anillo con átomos distintos al carbono) da como resultado un “núcleo bicíclico”. Además, los radicales unidos a estos anillos centrales determinan la farmacocinética, la actividad antimicrobiana y la toxicidad, y definen las diferentes subclases de antibióticos, como la penicilina, las cefalosporinas y las carbapenemas (86,87).

El mecanismo de acción de estos antibióticos involucra dos procesos principales: la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana y la inducción de la autólisis bacteriana (86,89,90). La pared bacteriana está compuesta principalmente por peptidoglicano en las bacterias grampositivas, cuya pared es más gruesa en comparación con las bacterias gramnegativas. Estas últimas poseen una pared más fina pero más compleja, que incluye una membrana externa formada por proteínas y lípidos, además de una fina capa de peptidoglicano [85]. Durante la síntesis de la pared bacteriana, el peptidoglicano se forma por cadenas repetidas de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El N-acetilmurámico forma cadenas de tetrapéptidos que, al unirse, constituyen una malla. Los beta-lactámicos son análogos estructurales de los residuos terminales D-alanil-D-alanina presentes en estas moléculas. Debido a esta similitud, se unen a las enzimas transpeptidasas (PBPs) de forma covalente, inhibiendo la formación de la pared bacteriana. Sin una pared bacteriana intacta, la célula es vulnerable a los cambios en la presión osmótica, lo que lleva a su lisis. Es importante destacar que la eficacia de estos antibióticos

depende de que la bacteria se encuentre en fase de multiplicación. Además, esta clase de antibióticos puede activar la autolisina bacteriana endógena, una enzima que hidroliza los enlaces del peptidoglicano entre el N-acetilmurámico y los residuos de alanina, contribuyendo a la lisis celular (86,89,90).

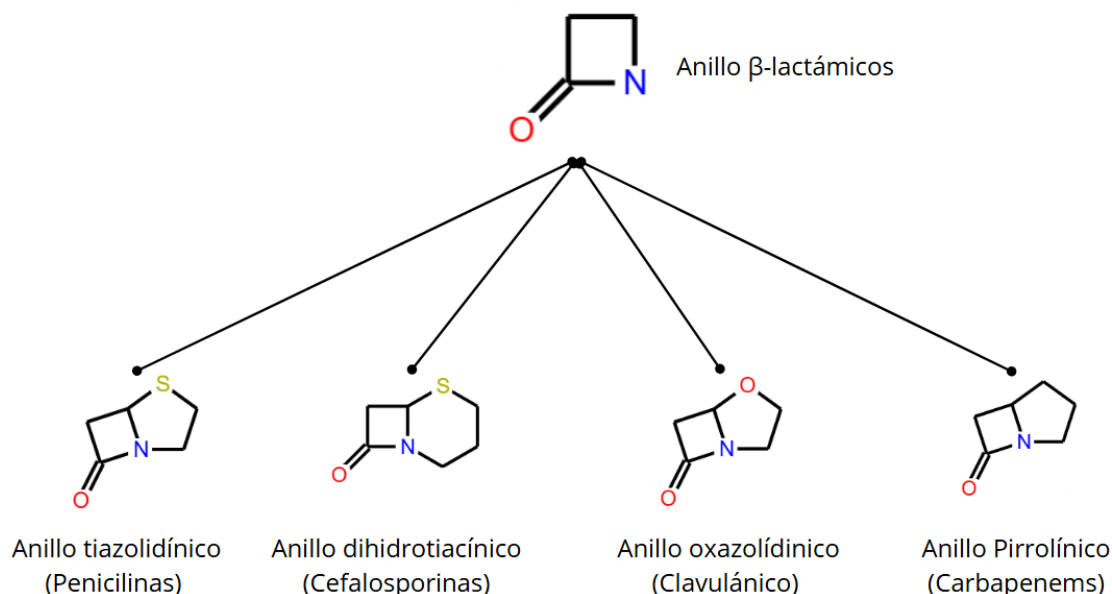


Figura 3. Anillo β -lactámicos y sus derivados en tipos de antibióticos.

Fuente: Elaboración propia.

1.10.1 Resistencia bacteriana a los β -lactámicos

La resistencia bacteriana a los antibióticos β -lactámicos se debe a la aparición de enzimas denominadas β -lactámicas, es la causa principal de resistencia para esta familia de antibióticos, se desarrollan principalmente en bacterias Gram-negativas (11,88). Estas enzimas se descubrieron en el año 1940 aisladas de *E. coli*. Sin embargo, *E. coli* solo utilizaba la enzima para la competición por nicho en relación con otros microorganismos y en el año 1941, iniciando el uso de la penicilina, resultando en la formación de enzimas llamadas las penicilinasas, desarrollando más investigaciones en nuevos fármacos para combatir la resistencia (91).

Las enzimas β -lactámicas hidrolizan el anillo β -lactámico, inhibiendo e impidiendo la unión al sitio PBP (89). La clasificación de Ambler clasifica a las enzimas β -lactámicas en función a la similitud de la secuencia de aminoácidos y el mecanismo de acción, los clasifica en cuatro clases: A, B, C y D. Las clases A, C y D presentan en su sitio activo residuos de serina. En cambio la clase B, en poseen en su sitio activo Zinc. Asimismo, el constante aumento del uso

indebido de los antibióticos ha llevado que las bacterias desarrollen β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) y metalo- β -lactamasas (MBL) (18,88,92).

1.10.1.1 Clase de enzimas β -lactamasas

i) Clase A

Esta clase de enzimas presentan en su sitio activo serina, incorporando clases enzimas como: las penicilinasas (PC-1), las ESBL (SHV2, CTX-M15 y TEM3), cefalosporinas de espectro extendido (TEM50), carbenicilinasas (RTG4), carbapenemasas (KPC2,SME1, IMI1), cefalosporinasas de espectro extendido (Cep-A), carbenicilinasas (CARB3, PSE1) y penicilinasas (SHV10, TEM30) (92,93).

ii) Clase B

La clase B son las únicas que presentan en su sitio activo iones de metaloenzima de Zn^{+2} , son las carbapenemasas o también conocidas como MBL, en esta clase presentan enzimas de amplio espectro, que se subdividen en subclases como la **B1**: NDM, Bcil, VIM, IMP; la **subclase B2**: CphA y SFH; y la **subclase B3**: AIM, GOB-18, L1. Sin embargo, la subclase B1 y B3 para que entren en activación necesitan dos iones de Zn^{+2} a comparación de la subclase B2 que solo necesita un ion de Zn^{+2} , además de que la unión de un ion más causaría la inhibición de esta subclase de enzimas (88,92–94).

iii) Clase C

Son enzimas denominadas cefalosporinasas. Se encuentran enzimas como: AmpC/CE, DHA y CMY. La enzima más común es la AmpC que pertenecen a la familia de *Enterobacteriaceae*. Sin embargo, las enzimas de AmpC suelen estar inactivas en las mayoría de bacterias Gram-negativas, pueden entrar en activación con mutaciones en los genes ampD y ampR o mediante la exposición a la cefoxitina (92,94).

iv) Clase D

Las enzimas más representantes de esta clase son las OXA. Dentro de esta clase se encuentran las ESBL de OXA11 y OXA15 dando resistencia a los antibióticos oximiino-cefalosporinas, también están las carbapenemasas de tipo OXA23 y OXA48, esta última es la enzima que más complicaciones da, por su alta actividad hidrolítica contra los carbapenémicos, su transmisión mediante plásmidos, detección complicada requiriendo el uso de técnicas moleculares y la resistencia

combina que poseen convirtiendo a la bacteria en multirresistente (91,92,94). Sin embargo, se creía que este tipo de enzimas solo pertenecías a las bacterias Gram-negativas, ahora en la actualidad se encontraron ejemplo de enzima en bacterias Gram-positivas como en *Bacillus sp* (BAT-1, BSU-1 y BAT-1) y *Clostridium difficile* (CDD-1) (94).

1.10.1.2 Familia de enzimas contra β -lactámicos

1.10.1.2.1 β -lactámicas de espectro reducido

A) TEM-1 y TEM-2:

TEM-1 descubierto por primera vez en el año 1965, aislada de *E. coli*, esta bacteria se aisló de un hemocultivo, este tipo de enzimas hidrolizan a la ampicilina más rápido a comparación de otros antibióticos como: carbenicilina, cefalotina y oxacilina. Sin embargo la limitante de esta enzima son las cefalosporinas de espectro extendido. La enzima TEM-2 presenta una misma actividad hidrolítica que su antecesor, la diferencia existente es en su sitio activo, ya que posee un promotor más activo (93,95).

B) SHV-1

Este tipo de enzimas son llamadas SHV debido a que poseen una variable de reactivo sulfhídrido. Esta enzima fue descubierta por primera vez en el año 1985, pero fue la SHV-2, hallándose en la bacteria *Klebsiella ozaenae*, lo que la distingue de la SHV-1 es que en la SHV-2 presenta una sustitución del aminoácido Gly a Ser (95). Este tipo de enzimas llegan a hidrolizar aztreonam y la tercera generación de cefalosporinas (ceftazidima y cefotaxima) (96).

1.10.1.2.2 β -lactámicas de espectro extendido

A) TEM-3 en adelante

El TEM-3 fue detectado de *K. pneumoniae* en el año 1987 y desde ese momento se han reportado un aumento considerable de diferentes variantes de la enzima TEM-3 (93).

B) SHV-2 en adelante

Este tipo de enzimas son las más detectas en los aislados de pacientes clínicos (93), poseen el nombre de SHV debido a una variante que pertenece al grupo sulfhidrido.

Las enzimas de esta familia pueden hidrolizar cefalosporinas (tercera generación – ceftazidimia y cefotaxima) y aztreonam. La detección de estas enzimas es aislada de la familia de *Enterobacteriaceae*, sin embargo en el entorno clínico se aislaron de la especie de *K. pneumoniae* (95,96).

C) CTX-M en adelante

Este tipo de enzimas fueron detectados en America del Sur y en Asia, para posteriormente extenderse a nivel global, los CTX-M son las enzimas que más evoluciones han presentado y acelerada (97). Su nombre CTX-M se debe a que posee una alta actividad hidrolítica contra la cefotaxima y siendo el grupo más común, teniendo al genotipo CTX-M-15 el de transmisión más dominante (95,97). La gran variabilidad de genotipos de CTX-M es debido a que codifica 291 aminoácidos, lo que provocaría que cualquier cambio que se realice se originara una nueva variante, por ello se dividieron en cinco grupos: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25 (93,96,97).

D) PER-1

La enzima PER-1 fue aislada en 1991 de la bacteria *Pseudomona aeruginosa*. Estas enzimas son resistentes a la aztreonam, cefotaxima, ceftazidima y penicilina. Hasta el momento solo se reportaron siete tipos de PER. Sin embargo, PER-2 fue descubierta en el año 1996 en Argentina, esta enzima presenta una homología con PER-1 (98).

E) VEB-1 y VEB-2

Las enzimas de tipo VEB se descubrieron en el año 1996, son β -lactámicas de espectro extendido de Vietnam (VEB-1). Estas enzimas están en mayor distribución en el sudoeste Asiático. Los aminoácidos que posee esta enzima presentan una similitud del 38% con las PER-1 y -2. La presencia de VEB ya se reportó en bacterias como: *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *P. auroginosa*, *Proteus mirabilis*, y *Providencia. stuartii* (98).

F) GES

Las enzimas GES actúan contra las cefalosporinas de amplio espectro (99). Se identificó por primera vez en el año 1998 en Francia, aislado de la bacteria *K. pneumoniae* (GES-1). En la actualidad también se identificaron en bacterias como

A. baumannii y *P. aeruginosa*, además si a su secuencia se une más aminoácidos es capaz de ampliar su espectro resultando en carbapenémicos. Esta familia hidroliza a las cefalosporinas y penicilinas. Existen variantes como: GES-2, -3, -4, -5, -6, -7 y -8 (98).

G) CMY

La familia de CMY fue descubierta en el año 1979, aislándose de *P. mirabilis*, son capaces de hidrolizar cefamicina (100). Las enzimas de esta clase se dividen en dos grupos, siendo la CMY-1 y CMY-2, asimismo la gran variedad de esta familia desarrolla una actividad hidrolizante de amplio espectro extendido en relación a los antibióticos β -lactámicos (101).

1.10.1.2.3 Carbapenemasas

A) KPC

La *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasas o también KPC, enzima descubierta en el año 1990, se encuentran principalmente en este tipo de bacterias, las enzimas de estas bacterias son capaces de hidrolizar diferentes fármacos, tales como: fluoroquinolonas, aminoglicosidos y también desarrollaron actividad contra los β -lactámicos (aztreonam, carbapenems y cefalosporinas) (99).

B) NDM

Las enzimas metalo-prolactamasa-1 de Nueva Dheli (NDM), esta familia hidroliza todas la carbapenems, hasta el momento hay 16 variantes de NDM y las cuales habitualmente se encuentran en *K. pneumoniae* y en *Enterobacterales*. Detectadas de un paciente con ITU causada por *K. pneumoniae* en la India (99).

C) VIM

Las enzimas de este tipo se aislaron por primera vez en Verona, Italia en el año 1994, son conocidas como metalo- β -lactamasas codificados por integrones de Verona (VIM), se encuentran un total de 14 variedades y distribuidas globalmente. Hidrolizan carbapenems y β -lactámicos de espectro extendido. Las enzimas se encuentran frecuentemente en *P. putida*, *P. aeruginosa* y escasamente en *Enterobacteriaceae* (96,99).

D) IMP

La IMP-1 es el primer metalo- β -lactámasea móvil descubierta en *P. aeruginosa* en Japón en el año 1988. Hay 50 variedades de IMP, ubicados en transposones y plásmidos, hidrolizan las carbapenems (96,99).

E) OXA

Las enzimas de tipo OXA hidrolizan la cloacilina y oxaciclina. Sin embargo, hay 244 variantes de tipo OXA, de las cuales 27 de estas variantes (derivadas de OXA-10 y OXA-2) hidrolizan cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Se encuentran principalmente en *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *Shewanella spp* y *Acinetobacter* (95,98,99).

1.11 MALDI-TOF MS

La identificación tradicional de microorganismos se basó en un principio en tinciones y pruebas bioquímicas, estos métodos de identificación presentaban una restricción debido a: procesos metabólicos de los microorganismos, aislamiento exacto del microorganismos y los tiempos de incubación. Sin embargo, en la actualidad existen métodos que son alternativas en el proceso de identificación de microorganismos, como las técnicas moleculares, consolidándose como procedimientos adicionales en la identificación, técnicas como la: identificación mediante ARN 16S o mediante PCR con secuencias específicas. Los métodos moleculares proporcionaron gran soporte, hasta la llegada de MALDI-TOF MS (102).

La espectrometría de masas (MS) tuvo su desarrollo a finales del siglo XIX, usado en un principio para la medición de átomos, contribuyendo al descubrimiento de los isotopos. Esta tecnología tiene un enfoque analítico en el cual mide la relación de masa-carga (m/z) en relación a los compuestos químicos y proporciona el peso molecular. Algunos de estas técnicas de ionización en la actualidad son: la ionización por electrospray (ESI), desorción/ionización por láser (LDI), desorción/ionización por láser mejorada en superficie (SELDI) y la ionización por desorción laser asistida por matriz (MALDI). El uso de esta técnica comienza en 1990 cuando al equipo MALDI se acopla a un analizador de tiempo de vuelo (TOF) y con esto se consigue la identificación de células bacterianas integra. Este avance facilitó la fusión de dos equipos y desarrollen el sistema MALDI-TOF MS como una herramienta para la identificación de hongos, nematodos, virus y bacterias (103).

El sistema de MALDI-TOF MS presenta 3 sistemas: 1) el láser (sistema de ionización), 2) analizador de masas (TOF) y 3) detector de iones (103). Sin embargo este equipo no opera

sin antes poseer una matriz orgánica, esta matriz fue descubierta en 1976, este descubrimiento ayudo en el análisis de las macromoléculas orgánicas no volátiles y las polares biológicas (104). La técnica se basa en el uso de células indemne del microorganismo, la cual son colocadas en una placa metálica (slide), una vez que se encuentre en el slide, se le añade la matriz MS-CHCA, esperando a que seque a temperatura ambiente. Después el slide se coloca en el equipo, este usara un pulso laser con una longitud de onda de 337 nm, lo que causara la irradiación de la muestra causando una desorción/ionización de la muestra, produciendo una fase gaseosa, inducido por la absorción de energía del láser sobre la muestra, cuando las proteínas son ionizadas, estas se aceleran en un campo electrostático para luego ser expulsadas en un tubo de vuelo, en esta parte son separadas en relación a su tiempo de vuelo, llegando al detector de masas, produciendo los datos y arrojando como resultado un espectro de picos en el cual se ve la relación de m/z , el cual se puede evaluar el espectro de masas entre 2000 – 20 000 m/z . Cuando se termine de crear el perfil del microorganismos, se compara con una base de datos el cual posee datos de cepas de referencias, lo que facilita la identificación (102–104).

Cuando se obtienen los picos, estos pueden ser propios del género, especie o subespecie, también existe la posibilidad de que compartan el mismo pico especies distintas (102). Sin embargo, existen dos sistemas para la identificación mediante MALDI-TOF MS, que son: MALDI Biotyper[®] (Bruker Daltonics) y el sistema VITEK[®] MS (bioMérieux) (105). Ambos sistemas tienen una manera diferente de proporcionar el resultado de identificación es brindado un valor de puntuación en el caso de Bruker y un nivel de confianza en el caso de bioMérieux (102).

1.12 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Desde el descubrimiento de la doble hélice del ADN por Watson y Crick en 1953 (106), a partir de este punto, la necesidad y búsqueda para realizar estudios acerca de los ácidos nucleicos, investigando e implementar métodos reproducibles y sensibles para su estudio (107). Aunque, no fue hasta el año de 1984 que se creó la PCR por el bioquímico Kary Mullis, marcando un antes y un después en el estudio molecular (108). Sin embargo, debido a las altas temperaturas con la que trabaja la PCR, había un problema y era que la polimerasa se destrozaba en cada ciclo de desnaturalización, por lo que había de ser colocado uno nueva en cada ciclo (109), este problema se resolvió a causa de la implementación de la Taq-polimerasa a la PCR en 1988. La Taq-polimerasa que es una enzima que se encuentra en la bacteria *Thermus aquaticus* (descubierta en 1968), esta bacteria se encontraba en un

ambiente de altas temperaturas (géiseres de Yellowstone), siendo capaz de soportar las altas temperaturas en la etapa de extensión (110).

La PCR se fundamenta en la replicación del ADN sin la necesidad de utilizar un organismo vivo, es decir, permite la amplificación de manera exponencial del ADN (111). Esta técnica en la actualidad está siendo utilizada en diversas áreas, tales como: investigación, diagnóstico molecular, identificación y diagnóstico microbiológico, terapia génica, estudios en la farmacogenética y farmacogenómica, avances en la investigación del cáncer, identificación en el área forense, pruebas de paternidad (106,111).

Los componentes necesarios para la PCR son: 1) el ADN diana, 2) los primers, 3) el ADN polimerasa, 4) dNTPs, 5) ion magnesio (Mg^{+}) y 6) solución buffer. Estos componentes interactúan en los tres procesos de la PCR más el equipo termociclador que brinda los pasos necesarios para: 1) **La desnaturalización**, en este ciclo el ADN inicia la separación de la doble hélice con una temperatura de 95 °C ocasionando la ruptura de los puentes de hidrogeno, finalizando esta etapa se tiene como resultado las cadenas separadas que son usadas como temple para el paso de 2) **hibridación**, en esta etapa los primers presentes son alineados, en orientación de 3' a 5' e hibridan con la secuencia complementaria (alineación), teniendo una temperatura de melting (T_m) entre 50 – 60 °C, si en todo caso el diseño del primer sea el adecuado. Finalmente se encuentra la etapa de 3) **extensión**, en este último proceso actúa la Taq-polimerasa sobre la formación del primer-temple, empezando su función de alargamiento agregando dNTPs, actuando sobre una temperatura óptima de 72 °C. al finalizar el ciclo se habrán formado los amplicones con el número de pares de bases que sea determinado según lo investigado (107,112).

Capítulo II

Materiales y métodos

El presente capítulo se redacta los materiales y métodos ejecutados durante el periodo experimental de la tesis, lo que hizo posible la elaboración y desarrollo del trabajo experimental y obteniendo los resultados esperados en el capítulo 3. **Lugar de ejecución**

Esta investigación fue realizada en las instalaciones de la Universidad Nacional San Agustín, usando los laboratorios de microbiología, proteómica y genómica de la Facultad de Medicina y el Laboratorio de Medicina y Biología Molecular de la Universidad Católica de Santa María.

2.2 Materiales

2.2.1 Reactivos

1. Agar base *Campylobacter*
2. Suplemento selectivo *Campylobacter* (Skirror)
3. Agua peptonada
4. Alcohol de 96%
5. Alcohol de 70%
6. Matriz de MALDI-TOF MS-CHCA (α -Ciano-4-hydroxycinnamic acid)
7. Master Mix PCR
8. Marcador de peso molecular (100 – 1500 pb)
9. Agarosa ultrapura.
10. Frasco de TAE 40X.

2.2.2 Material biológico

1. *Gallus gallus domesticus*

2.2.3 Equipos

1. Autoclave vertical.
2. Balanza analítica.
3. MALDI-TOF MS.
4. Cabina de PCR.
5. Termociclador Eppendorf.
6. Lámpara UV.

7. Congelador de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
8. Incubadora de Anaerobiosis.

2.2.4 Vidrio

1. Matraces Erlenmeyer 250 mL, 500 mL y 1000 mL.
2. Pipetas de 5 mL y 10 mL.
3. Probeta de 100 mL y 1000 mL.
4. Frascos con tapa.
5. Tubos de ensayo.
6. Mecheros de alcohol.

2.2.5 Otros

1. Tubos Eppendorf de 1.5 mL.
2. Tubos para PCR de 0.2 mL.
3. Micropipeta de 10 μL , 250 μL y de 1000 μL .
4. Tips blancos (10 μL), amarillos (250 μL) y azules (1000 μL).
5. Asa bacteriología
6. Parafilm.
7. Placas PCR
8. Placas Petri descartables.

2.3 Métodos

2.3.1 Recolección de muestras

Las muestras fueron obtenidas de los mercados Acomare, Nueva Esperanza y San Camilo en un periodo de 12 meses abarcando los años de 2024 al 2025. La recolección de la muestra se realizó 1 vez por semana de los 3 diferentes mercados. Las muestras de pollo pesaron: 250 g, fueron transportados y conservados en bolsas con cierre hermético al Laboratorio de Investigación Microbiología Molecular de la Facultad de Medicina de la UNSA (en una hielera), manteniendo una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (113).

2.3.2 Procesamiento de muestras

Las muestras fueron procesadas según (He Y, Capobianco J, Armstrong C et al.) (114). Se colocarán las muestras, las cuales serán cortadas y puestas en una nueva bolsa con cierre hermético, siendo lavadas con agua peptona (BPW) a una concentración del 0.1%,

usándose 100 mL de BPW, en las bolsas Zifloc posteriormente, incubadas a 37 °C en condiciones microaerófilas por 2 horas.

2.3.3 Aislamiento de las bacterias del pollo

Pasado las 2 horas, se tomó una asa microbiología de 10 µL y se sembró directamente la muestra en Agar Skirrow (Oxoid®) mediante la técnica de estriado por agotamiento. El Agar Skirrow (Oxoid®) se encuentra suplementado con antibióticos: trimetoprima (2.5 mg/L), polimixina B (2 500 IU/L), rifampicina (5.0 mg/L) y anfotericina B (5.0 mg/L). Se preparó el Agar Skirrow (Oxoid®) según las indicaciones de la ficha técnica, detalladas en el ANEXO 1.

Se incubaron en una atmósfera microaerófila, compuesto por una mezcla de gases como: oxígeno (O₂ – 5%), dióxido de carbono (CO₂ – 10%) y nitrógeno (N₂ – 85%); a una temperatura de 37 °C por un tiempo de 24 h., según Lior H. 1984 (115).

2.3.4 Identificación mediante MALDI-TOF MS

La identificación bacteriana se desarrolló con la intervención del equipo VITEK® MS (bioMérieux) – MALDI-TOF MS. Se siguió el protocolo que maneja el Laboratorio de investigación Microbiología Molecular (LIMM), ANEXO 2. La interpretación de los resultados de identificación se realizará con la plataforma RUO SARAMIS según el proveedor bioMérieux (116), los resultados darán un nivel de confianza, donde menor al 60% quiere decir que no se han identificado correctamente y mayor al 60% la identificación se realizó correctamente (102).



Figura 4. MALDI-TOF MS y preparación de las muestras para su identificación.

2.3.5 Extracción de ADN bacteriano

El ADN fue extraído de 70 muestras bacterianas utilizando el kit TIANamp Bacteria DNA Kit (TIANGEN®), bajo las condiciones e indicaciones descritas según el fabricante, detalladas en el ANEXO 3.

El kit de extracción de ADN se basa en una columna de Sílice, el fundamento radica en la acción de adsorción y desorción de los ácidos nucleicos, estos se unen a la fase sólida (Sílice) por la presencia de sales caotrópicas. La columna conformada por silicio y unidos covalentemente a átomos de oxígeno y en la superficie de la partícula se encuentran unidos los átomos de H, ocupando en la superficie OH. El ADN al ser un anión con carga negativa se une a la columna de sílice con dos tipos de interacción no covalente ocasionado por las soluciones de unión en la etapa de adsorción por la alta concentración de sales caotrópicas (algunas incluyen yoduro de sodio, perclorato de sodio, cloruro de guanidinio y tiocianato de guanidinio). En los posteriores pasos de lavado son eliminados las proteínas y otros contaminantes para finalmente con un tampón de elución (solución con baja concentración de sales) o agua ultrapura, eliminan los cationes que unen al ADN con la columna de sílice (117).



Figura 5. kit TIANamp Bacteria DNA Kit (TIANGEN®)

Las muestras se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el análisis molecular.

2.3.6 Evaluación de la calidad del ADN

Se evaluó la concentración, calidad y pureza del ADN con el equipo Eppendorf BioSpectrometer® a A260/280.

2.3.7 Evaluación de genes de resistencia

2.3.7.1 Parámetros para PCR convencional

Se preparo placas de PCR, las cuales se prepararon para una reacción de 70 muestras y 2 muestras de control negativo y positivo, el volumen final de cada pocillo fue de $25\text{ }\mu\text{L}$, la cuales tenían los Primers, 2X PCR Master Mix con Dye, agua de grado molecular y el ADN extraído, los volúmenes de cada componente se observan en la siguiente tabla:

Tabla 8. Volúmenes de los componentes de la PCR.

Contenido	Volumen
Primers (F+R)	$1.5\text{ }\mu\text{L}$
MasterMix	$12.5\text{ }\mu\text{L}$
Agua de grado molecular	$10\text{ }\mu\text{L}$
Muestra de ADN	$1\text{ }\mu\text{L}$
Volumen final	$25\text{ }\mu\text{L}$

Para los parámetros de PCR, se estandarizo que cada gen se corriera un total de 35 ciclos, con temperaturas de desnaturalización (94 °C) , alineamiento según la tabla 9 y extensión (72 °C).

Tabla 9. Secuencia de Primers y Tm.

Gen	Primers	Tm (°C)	pb	Referencia
blaCTX-M-1	F: 5'-TGG TTA AAA AAT CAC TGC GC-3'	48	876	(118)
	R: 5'-TTA CAA ACC GTC GGT GAC GAT-3'			
blaCTX-M15	F: 5'-ATG TGC AGC ACC AGT AAA GTG ATG GC-3'	58	593	(15)
	R: 5'-TGG GTG AAG TAA GTG ACC AGA ATC AGC GG-3'			
blaCMY	F: 5'-GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT CCC G-3'	63	522	(119)
	R: 5'-GGC ACA TTG ACA TAG GTG TGG TGC ATG-3'			
blaTEM	F: 5'-TTC CTG TTT TTG CTC ACC CAG-3'	52	112	(120)
	R: 5'-CTC AAG GAT CTT ACC GCT GTT G-3'			
blaMOX	F: 5'-GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT-3'	53	520	(121)
	R: 5'-CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG C-3'			
blaPER-2	F: 5'-GCT CCG ATA ATG AAA GCG T-3'	56	520	(122)
	R: 5'-TTC GGC TTG ACT CGG CTG A-3'			
blaNDM	F: 5'-GGT TTG GCG ATC TGG TTT TC-3'	51	624	(123)
	R: 5'-CGG AAT GGC TCA TCA CGA TC-3'			
blaVIM	F: 5'-GAT GGT GTT TGG TCG CAT A-3'	49	390	(123)
	R: 5'-CGA ATG CGC AGC ACC AG-3'			

	F: 5'-GCG TGG TTA AGG ATG AAC AC-			
		3'		
blaOXA-48			50	438 (123)
	R: 5'-CAT CAA GTT CAA CCC AAC CG-			
		3'		

2.3.8 Electroforesis

Una vez terminada la reacción de la PCR; se procedió con la verificación de los resultados obtenidos mediante electroforesis en gel de agarosa. La electroforesis se basa en la separación de moléculas en función a su tamaño en combinación con fuerzas eléctricas, resultando en la separación de las moléculas. La carga negativa del ADN o ARN (ubicados en el cátodo) combinadas con el campo eléctrico resulta en el movimiento de las moléculas al ánodo, moviéndose a través del gel de agarosa, tiene en su estructura una malla tridimensional (124).



Figura 6. Equipo de electroforesis del laboratorio.

Se preparó un gel de agarosa al 2% y disolviendo en 300 mL de buffer TAE (Tris-Acetato EDTA) al 1X, ebulviendo con el uso del microondas. Para visualizar los productos de la PCR, el gel fue teñido con 2 μ L GelRed, como se detalla en el ANEXO 6. Las muestras fueron cargadas en los pocillos del gel y se corrieron a 90 V por un tiempo de 60 min. La lectura del gel se realizó en el transiluminador UV, observando las bandas según la tabla 9.

Capítulo III

Resultados y discusiones

3.1 Identificación bacteriana de los mercados

Se realizó la identificación microbiológica de las muestras de pollo obtenidas de los tres mercados (Nueva Esperanza, Acomare y San Camilo).

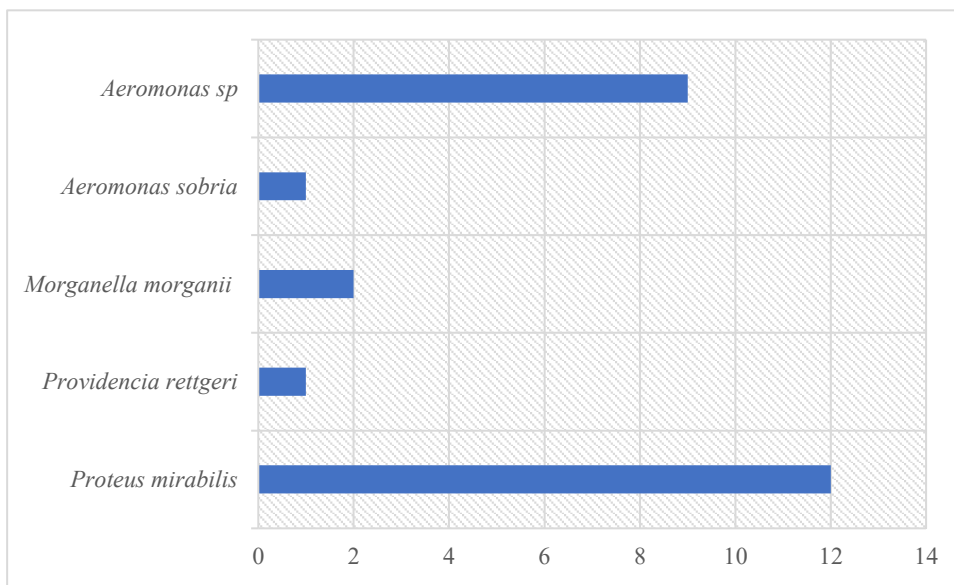


Figura 7. Identificación microbiológica del mercado Nueva Esperanza

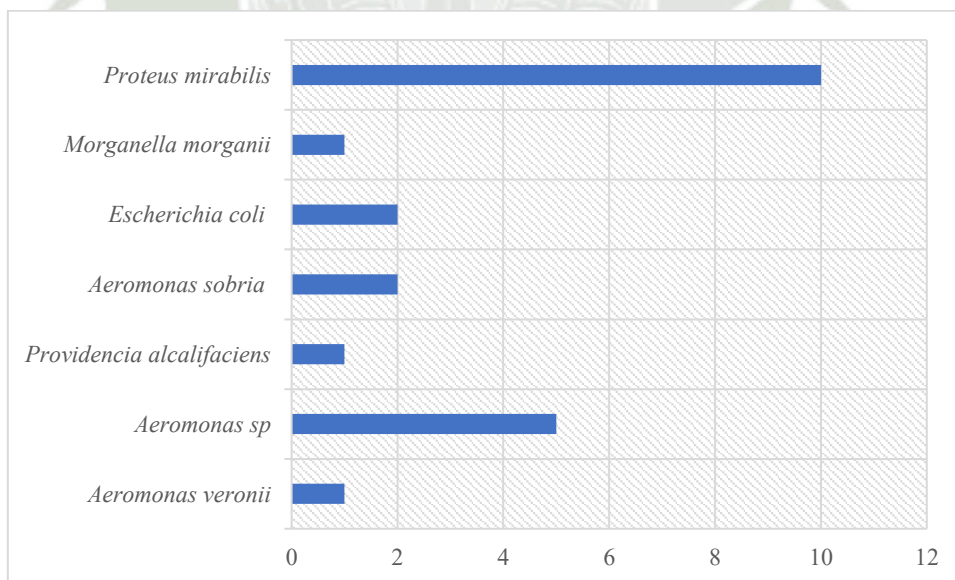


Figura 8. Identificación microbiológica del mercado Acomare

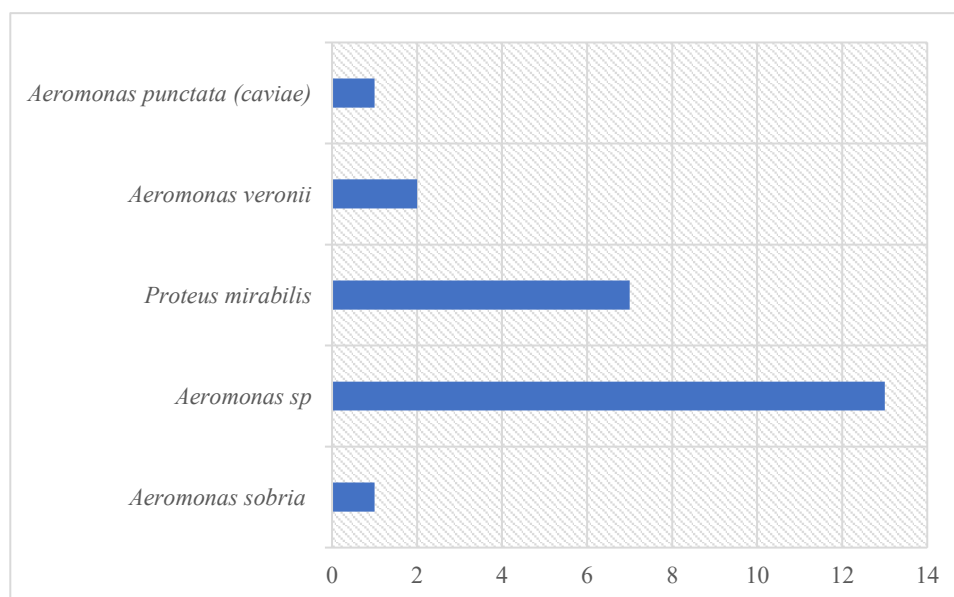


Figura 9. Identificación microbiológica del mercado de San Camilo

La identificación microbiológica de los tres mercados se representa en el figura 7 (mercado La Nueva Esperanza), figura 8 (mercado Mayorista Acomare) y figura 9 (mercado San Camilo). Sin embargo, en dos mercados se observa menos diversidad de especies (5), Nueva Esperanza y San Camilo. El resumen total de las identificaciones se demuestra en la figura 10.

La identificación de ciertos géneros bacterianos aislados en los mercados de Arequipa reflejó las tendencias observadas en la contaminación de productos avícolas a nivel mundial. El género más aislado en los tres mercados fue *Aeromonas spp.*, representando el 54.2% de los aislados en el mercado San Camilo, el 36% en La Nueva Esperanza y el 20.8% en Acomare. Este hallazgo confirmó el rol de *Aeromonas* como un patógeno transmitido por los alimentos de creciente preocupación, lo que se vio respaldado por diversas investigaciones que han reportado su prevalencia en la cadena de suministro avícola. Estudios de vigilancia en países como Bangladesh y la India también identificaron a las especies de *Aeromonas* como contaminantes frecuentes de la carne de pollo (125,126). Específicamente, el aislamiento de especies como *A. sobria* (5.7%), *A. veronii* (4.3%) y *A. caviae* (1.4%) en Arequipa fue particularmente relevante, dado que estas especies han sido reconocidas por su potencial patogénico y su capacidad para portar factores de virulencia que representan un riesgo para la salud pública al ser consumidas (125,127).

El segundo género bacteriano más aislado fue *Proteus mirabilis*, el cual se presentó en mayor proporción en el mercado Nueva Esperanza (48%), seguido de Acomare (41.7%) y San Camilo (29.2%). La presencia significativa de *P. mirabilis* en las muestras de pollo coincidió con los datos de otros países, la cuales investigan la carga bacteriana de la carne de pollo. Estudios

realizados en regiones de Oriente Medio, reportaron la identificación de *P. mirabilis* en muestras de pollo, además han examinado la detección molecular de genes de virulencia en aislados de esta especie obtenidos tanto de pollo como de pacientes humanos (128). Estos resultados, al igual que los obtenidos en Arequipa, recalcan el potencial zoonótico de esta bacteria, así como la de buscar controlar su presencia en los alimentos y la vez la de mitigar la resistencia antimicrobiana (129,130).

Además de los géneros dominantes, se aislaron otras *Enterobacteriaceae* en menores proporciones, incluyendo *Escherichia coli* (2.9%), *Morganella morganii* (2.9%), *Providencia alcalifaciens* (1.4%) y *P. rettgeri* (1.4%). Si bien estas proporciones fueron bajas, su identificación fue de suma importancia para el contexto del estudio. La presencia de *E. coli* y otras enterobacterias en la carne de pollo es un indicador de la contaminación. Estas especies bacterianas son consideradas como reservorios y vectores de genes de resistencia a los antibióticos, y su detección en los mercados de Arequipa y recalca la preocupación global por la diseminación de la resistencia mediada por alimentos (131,132). Específicamente, se ha documentado extensamente que estos aislados pueden portar y transferir genes codificadores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y metalo- β -lactamasas (MBL) (132–135).

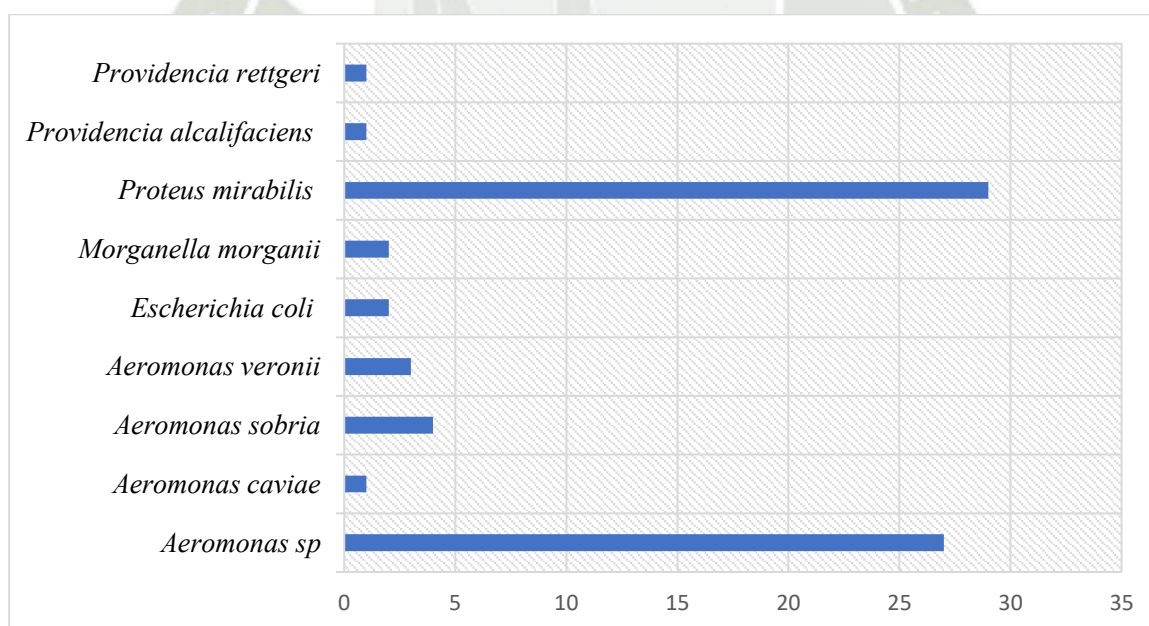


Figura 10. Representación general de los tres mercados

La figura 4 demuestran como se realizó la identificación de las bacterias mediante MALDI-TOF MS, detalladas en el ANEXO 4 y los espectro proteicos de los resultados de algunas bacterias identificadas se representan en el ANEXO 5.

3.2 Extracción y cuantificación de ADN bacteriano

El estudio de genes de resistencia en bacterias aisladas de muestras de pollo se realiza mediante la detección de genes de resistencia. Sin embargo, antes de la identificación de los genes se necesita obtener una extracción de ADN, que tenga una buena: concentración, calidad e integridad. Estas serían las buenas consideraciones para el avance del estudio. En la extracción de ADN se extrajeron 70 muestras de ADN bacteriano, las cuales cumplían con los requisitos.

La verificación de estos requisitos se ejecutó mediante la cuantificación fluorométrica del ADN bacteriano. Se obtuvo una concentración promedio de 225.63 ng/μL, las lecturas registradas de cada muestra se detallan en el ANEXO 7.

Asimismo el equipo de medición arrojó la pureza del ADN, obteniendo un promedio de la relación A260/A280 de 2.00, detalladas en el ANEXO 8. Las figuras 11, muestra con que equipo se realizó la cuantificación del ADN y cuál era la concentración de dos de las muestras extraídas.

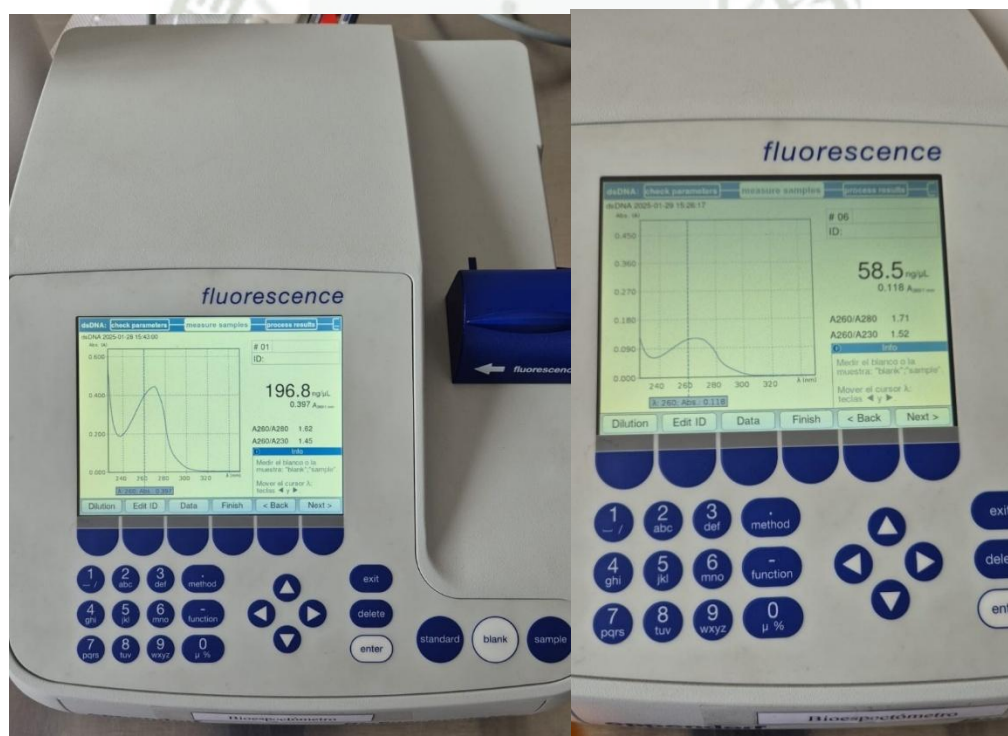


Figura 11. Equipo de cuantificación de ADN Eppendorf BioSpectrometer® con pureza y calidad del ADN

3.3 Detección de los genes de resistencia a β-lactámicos

Se logró amplificar las secuencias de primers de la tabla 9 que comprende los genes de resistencia, mediante la técnica de PCR, secuencias amplificadas del extremo 5' al 3'. La figura 12 muestra la amplificación de uno de los genes blaOXA-48. La tabla 10 resume la distribución

de los genes de resistencia a β -lactámicos detectadas de las diferentes especies bacterianas analizadas. En general, se observó una alta prevalencia de bacterias positivas en los genes que se está investigando.

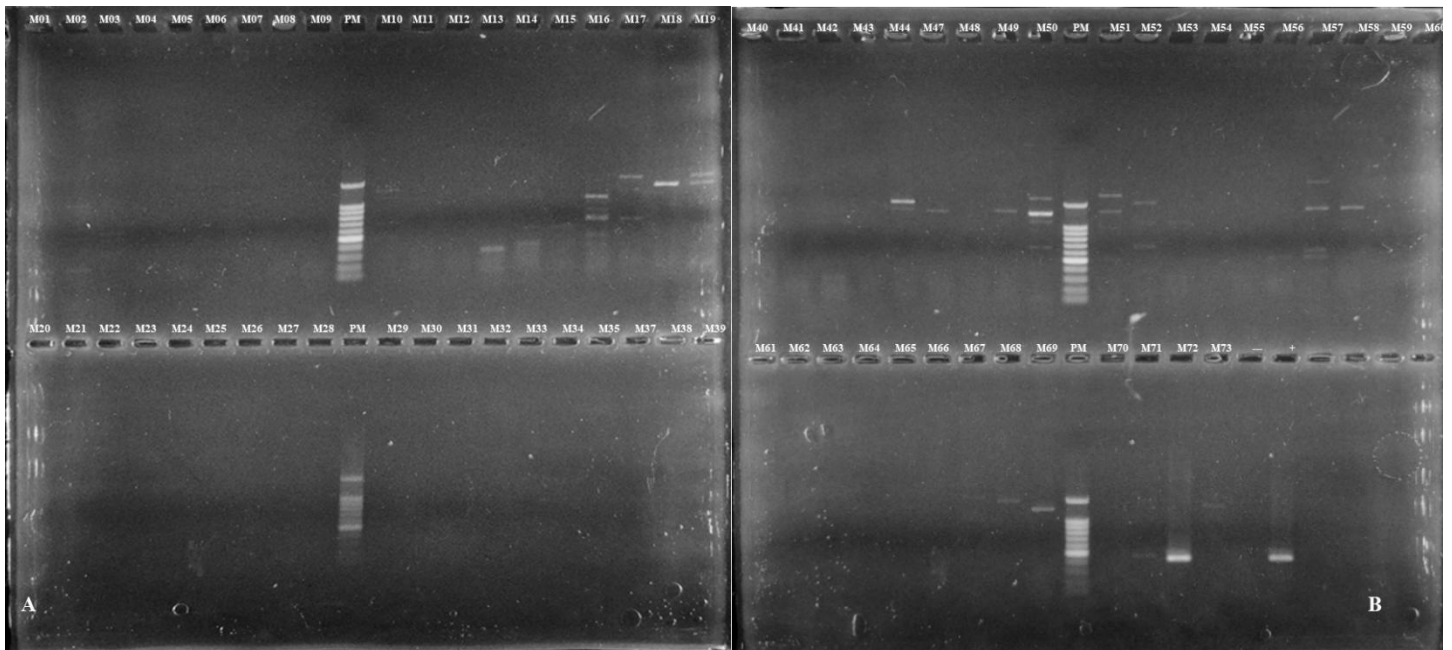


Figura 12. Lectura del gel de agarosa en el transiluminador UV, las últimas dos bandas que se muestran en la figura B representan el control negativo y positivo.

Se estudió nueve genes de resistencia que codifican para enzimas β -lactámicas de las cuales pertenecen a las cuatro clases (A, B, C y D) según la clasificación de Ambler, las clases A, C y D usan residuos de serina en su sitio activo, como los genes pertenecientes a la clase A, son: blaTEM, el cual hidroliza penicilinas y algunas cefalosporinas; blaCTX-M15, blaCTX-M1 y blaPER-2 codifican para ESBL. La clase C son: blaMOX y blaCMY, que hidroliza cefalosporinas. La clase D es blaOXA-48, actúa contra las oxacilinas o carbapenémicos. Por lo contrario la clase B usa en su sitio activo zinc y son: blaNDM, blaVIM son MBL. Son los genes analizados en este estudio.

Tabla 10. Resumen de las muestras positivas

Género y especie	bla NDM	bla VIM	blaOXA-48	blaCTX-M1	bla TEM	bla MOX	blaCTX-M-15	bla CMY	blaPE R-2
<i>P. mirabilis</i>	24	28	3	29	29	26	28	2	23
<i>A. punctata (caviae)</i>	1	1	0	1	1	1	1	0	1
<i>A. sobria</i>	2	4	2	4	4	4	4	0	3
<i>A. veronii</i>	3	3	1	3	3	3	3	1	2
<i>E. coli</i>	0	2	0	2	2	2	2	0	1
<i>Aeromonas sp</i>	22	26	13	25	26	17	25	11	18
<i>M. morgani</i>	3	3	1	3	3	1	3	1	2
<i>P. alcalifaciens</i>	0	1	0	1	1	1	1	0	1
<i>P. rettgeri</i>	1	1	0	1	1	1	1	0	1

3.3.1 *P. mirabilis*

P. mirabilis es una de las especie que presenta ausencia de β-lactamasas codificadas cromosómicamente (136,137). Sin embargo, en este estudio se aisló un total de 29 bacterias de *P. mirabilis* y los evaluados mostraron una gran relevancia de muestras positivas (figura 13) para la mayoría de los genes evaluados. Se detectaron muestras positivas en una mayor prevalencia para: blaNDM (82.8%), blaVIM (96.6%), blaCTX-M1 (100%), blaTEM (100%), blaMOX (89.7%), blaCTX-M-15 (96.6%) y blaPER-2 (79.3%). Asimismo, se detectaron genes como: blaOXA-48 (10.3%) y blaCMY (6.9%), pero en una menor prevalencia a comparación de los otros genes de resistencia.

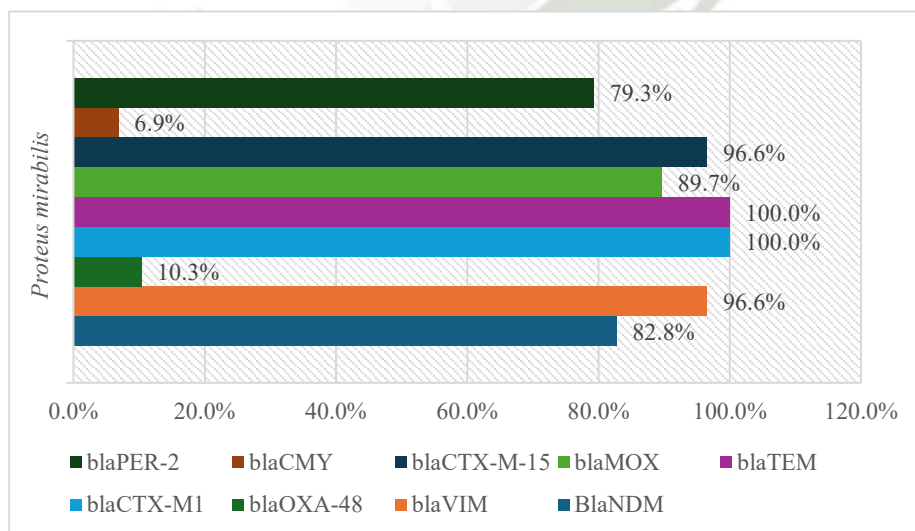


Figura 13. Representación gráfica de las muestras positivas de *P. mirabilis*

Los resultados del estudio demuestran una gran prevalencia de genes de resistencia β -lactámicos en los aislados, recayendo la preocupación global sobre la emergencia de resistencia a los antimicrobianos, además del impacto clínico y comensal que tiene la bacteria (136). La gran cantidad de muestras positivas para genes de carbapenemasas como lo son: blaNDM y blaVIM son preocupantes, ya que estos genes confieren resistencia a los carbapenémicos, los cuales son antibióticos de última línea usados para el tratamiento de infecciones graves en bacterias multirresistentes, la presencia de los genes blaNDM y blaVIM en *P. mirabilis* se ha reportado en varios países. Aunque el gen blaOXA-48 fue uno con menos frecuencia de positivos en los resultados, estudios previos destacan su presencia y diversidad genética en *P. mirabilis*, lo que representa dificultad para su detección (138). La dispersión de estos genes en *P. mirabilis* representa un gran problema debido a que se encuentran en elementos genéticos móviles, lo que ayuda la transferencia de estos genes entre bacterias e intensificando el problema de multirresistencia.

La elevada frecuencia de genes positivos para ESBL (blaCTX-M1, blaTEM y blaCTX-M-15), es un hallazgo significativo, ya que ESBL son los encargados de la resistencia a penicilinas y cefalosporinas de amplio espectro, resultando en un problema para las opciones terapéuticas comunes. Además, el gen blaTEM es una de las β -lactamasas ampliamente extendido en el mundo y es el que le confiere resistencia a *P. mirabilis*, ya que la detección del gen es frecuentemente detectada, asimismo la detección de blaPER-2 también contribuye al perfil de resistencia bacteria, aunque este gen es menos frecuente que otros tipos de ESBL (136,137).

Las muestras positivas para el gen blaCMY son β -lactamasas AmpC plasmídicas, son capaces de hidrolizar cefamicinas y cefalosporinas de tercera generación. La emergencia y preocupación del gen es debido a que se encuentra presente en plásmidos, resultando en una propagación más amplia ocasionando que se encuentre bacterias positivas en gran variedad (139).

P. mirabilis tiene grandes complicaciones clínicas, ya que al ser un uropatógeno común. Además de incluir complicaciones en pacientes con catéteres y llegando a causar infecciones más severas. La presencia de ESBL y carbapenemasas limita las opciones del tratamiento con antibióticos, ocasionando fallas terapéuticas, estancias hospitalarias prolongadas, aumento de costos médicos y en la mortalidad. En Latinoamérica, *P. mirabilis* se está volviendo un desafío por el crecimiento de resistencia a los antibióticos (140). Sin embargo, la realización de este estudio proporciona información relevante que disminuye la brecha de información que existe entre infecciones de *P. mirabilis* en humanos y la prevalencia de *P. mirabilis* en animales,

recalcando que existen más estudios por infecciones en humanos reportado por Ramatla et al. 2024 (138).

3.3.2 *Aeromonas*

Las bacterias analizadas fueron: *Aeromonas spp.* (26 aislado, figura 14), *A. caviae* (1 aislado, figura 15), *A. sobria* (4 aislado, figura 16) y *A. veronii* (3 aislado, figura 17). Las especies de *Aeromonas* aisladas de la carne de pollo resultaron en su mayoría positivas para genes de resistencia a β -lactámicos representando preocupación significativa en la salud pública y seguridad alimentaria. Estas especies bacterianas son propias de ambientes acuáticos, asimismo la presencia de estos en la carne de pollo podría ser un indicativo de contaminación y la detección de genes de resistencia aumenta más el riesgo de la bacteria.

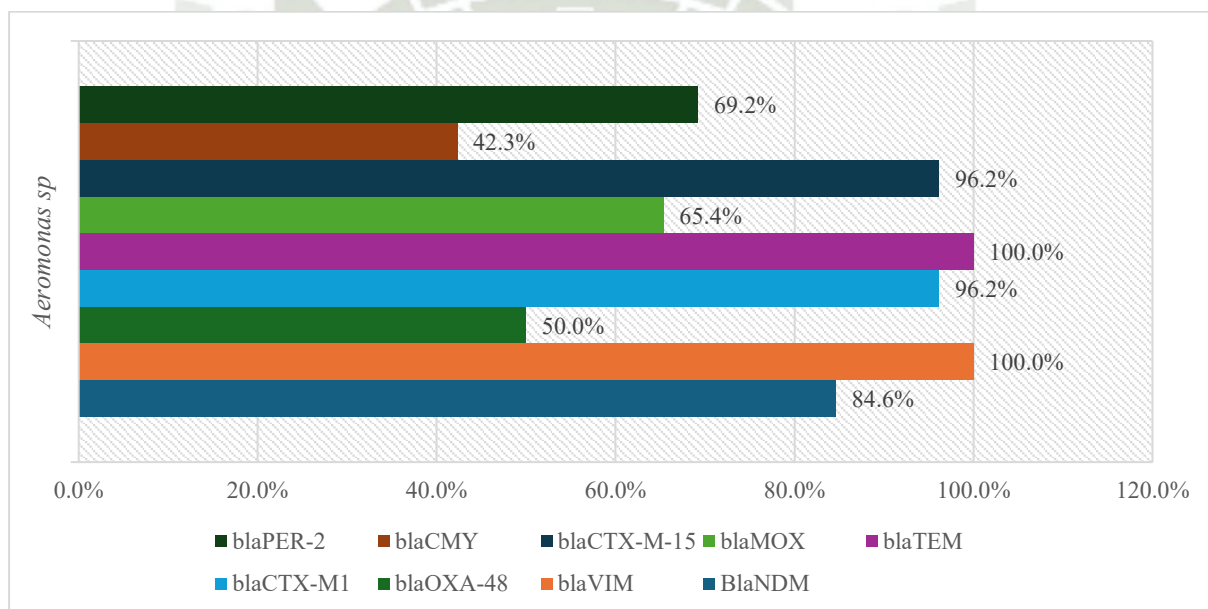


Figura 14. Representación gráfica de las muestras positivas de *Aeromonas spp.*

Como se mencionó anteriormente los genes que codifican resistencia MBL son: blaNDM, siendo positivas *Aeromonas spp.* (84.6%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (50%) y *A. veronii* (100%); también se detectaron muestras positivas en su mayoría para el gen blaVIM, teniendo muestras positivas en: *Aeromonas spp.* (100%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (100%) y *A. veronii* (100%). Sin embargo, la presencia de estos genes ya ha sido reportada en estudios previos, evaluando la resistencia a los carbapenémicos en aislados de carne de pollo, lo que podría indicar que los productos avícolas pueden actuar como reservorio para estos genes presentes en la cadena alimenticia. Además los MBL son los más comunes que produce *Aeromonas* y las secuencias de estos genes se encuentran distribuidas en especies como *A. hydrophila* y *A. veronii*. La identificación de estos genes (blaNDM y blaVIM) en estas bacterias

concuerdan con la capacidad de estas especies para hospedar y dispersar este tipo de resistencia. Asimismo se detectó muestras positivas para el gen blaOXA-48, que otorga resistencia a carbapenémicos, se obtuvieron muestras positivas en *Aeromonas spp* (50%), *A. sobria* (50%) y *A. veronii* (33.3%) con excepción de *A. caviae* (0%) (141,142).

Asimismo, se detectó muestras positivas para ESBL como: blaCTX-M1: *Aeromonas spp.* (96.2%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (100%) y *A. veronii* (100%); blaCTX-M-15: *Aeromonas spp.* (96.2%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (100%) y *A. veronii* (100%); blaTEM: *Aeromonas spp.* (100%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (100%) y *A. veronii* (100%) y blaPER-2: *Aeromonas spp.* (69.2%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (75%) y *A. veronii* (66.7%);. Estos genes de ESBL aislados de la carne de pollo presentan preocupación en la salud pública por el potencial de transmisión a los humanos mediante el consumo o manipulación de los alimentos contaminados. Estudios realizados en China han caracterizado la presencia de ESBL en *Aeromonas spp.* aislados en la venta de carne procedentes de mercados, corroboran la dispersión de estos genes en la cadena alimentaria (143,144).

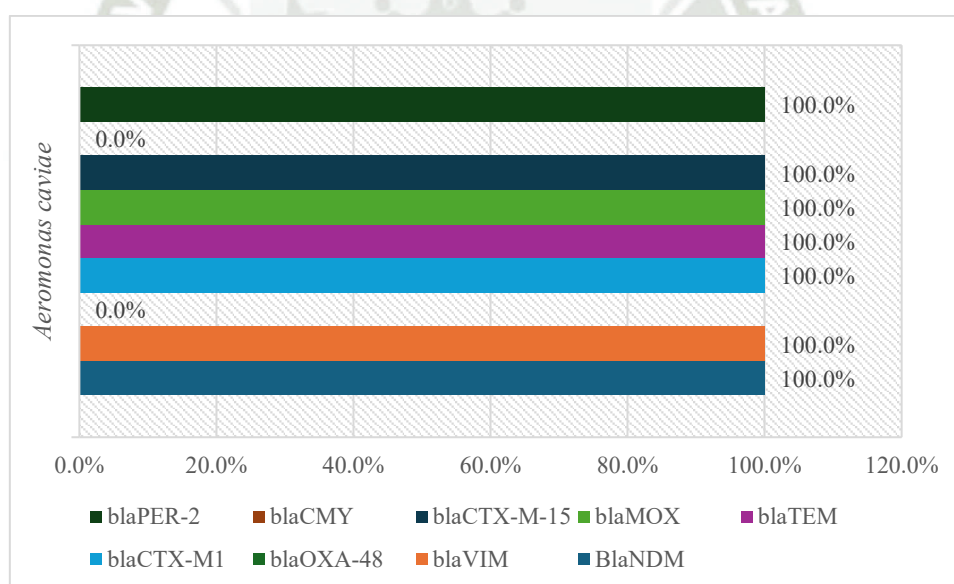


Figura 15. Representación gráfica de las muestras de *A. caviae* positivas

Las muestras positivas para el blaCMY, aunque en menor proporción, son: *Aeromonas spp.* (42.6%) y *A. veronii* (33.3%); y blaMOX: *Aeromonas spp.* (65.4%), *A. caviae* (100%), *A. sobria* (100%) y *A. veronii* (100%). La presencia de estos genes indica que estas bacterias poseen β -lactamasas de tipo AmpC plasmídicas. Sin embargo, aunque *Aeromonas* presenta resistencia a los β -lactámicos, la producción de estos se basa en tres β -lactamasas que son codificados cromosómicamente, produciendo genes de clase B, C y D (141).

No obstante, aunque las especies aisladas en menor cantidad (*A. caviae*, *A. sobria* y *A. veronii*) como se observa en los resultados fueron positivas para la mayoría de los genes evaluados indican que poblaciones menos prevalentes pueden llegar a ser portadores de genes de resistencia a β -lactámicos.

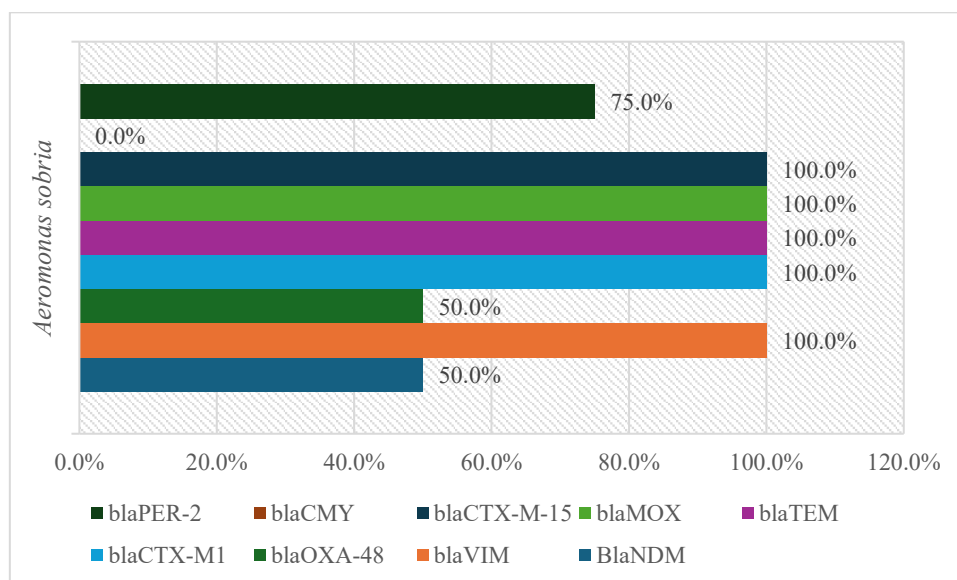


Figura 16. Representación gráfica de las muestras positivas de *A. sobria*.

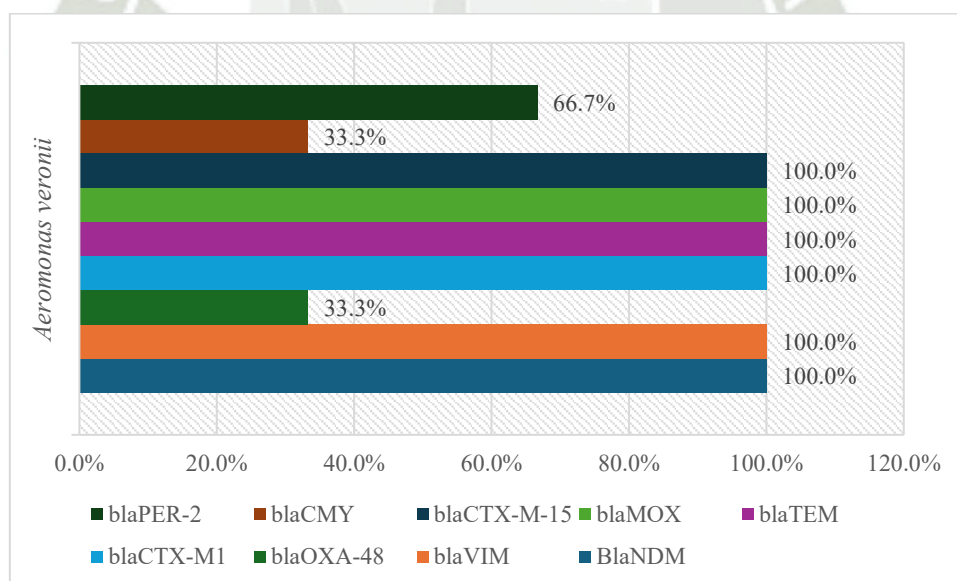


Figura 17. Representación gráfica de las muestras positivas para *A. veronii*.

3.3.3 *E. coli*

E. coli (2 aislados, figura 18) es una de las bacterias ampliamente estudiadas. Este estudio se reportó la presencia de genes de resistencia a β -lactámicos. Se detectaron muestras positivas para genes que codifican ESBL, como blaCTX-M1 (100%), blaTEM (100%) y blaCTX-M-15 (100%), aunque el hallazgo de estas bacterias fue bajo, la prevalencia de *E. coli* productoras de

ESBL en la cadena de producción avícola es un problema bien documentado a nivel global (145,146) y en Sudamérica (147,148). Estudios efectuados en Lima han reportado una gran prevalencia de genes de resistencia a β -lactámicos en *E. coli* aislados de la carne de pollo, sugiriendo que la carne de pollo puede ser una fuente de transmisión de *E. coli* resistente a los β -lactámicos (146). La dispersión de estos genes en la industria avícola tiene facilidad por el uso de antibióticos y la falta de una bioseguridad adecuada, resultando en bacterias resistentes.

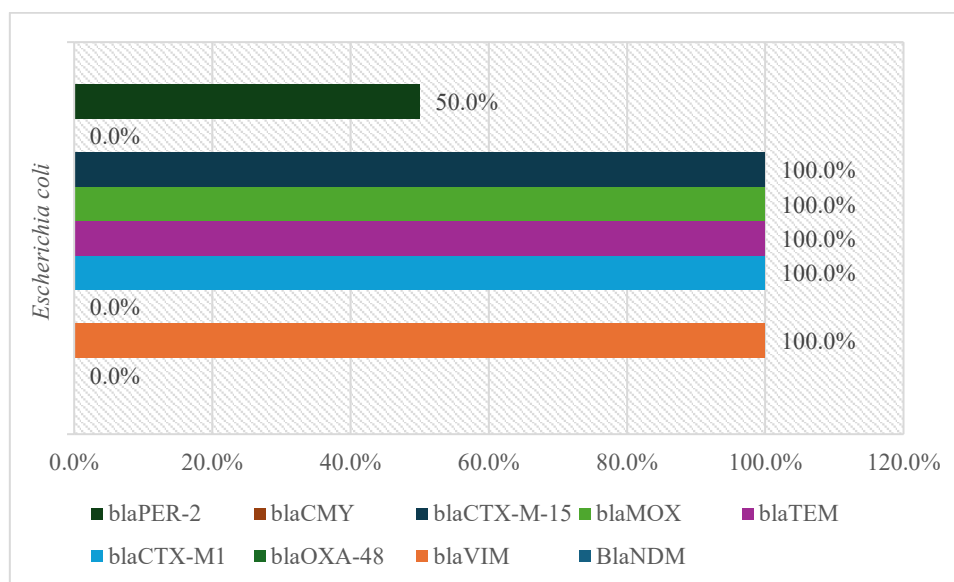


Figura 18. Representación gráfica de las muestras positivas de *E. coli*.

En el análisis no se detectaron los genes blaNDM y blaOXA-48, por lo contrario se identificó el blaVIM (100%), es la presencia MBL en la carne de pollo, este es una amenaza global emergente (146). Aunque el gen blaVIM es menos frecuente que los genes blaNDM y blaOXA-48 en *E. coli* de origen avícola, este hallazgo representa una preocupación debido a la importancia clínica de los carbapenémicos y la resistencia en la salud pública y animal. También se detectó la presencia del gen blaMOX (100%), el cual es de tipo AmpC plasmídica y es una preocupación creciente a nivel global. Para el caso de blaPER-2 (50%), es del tipo ESBL, se ha reportado en varios países de América del Sur, destacando su relevancia epidemiológica (145,146). Además, la presencia de *E. coli* de origen avícola en este estudio indica la diversidad de mecanismos de resistencia que circulan en la cadena alimentaria de Latinoamérica y contribuyen en la circulación de bacterias resistentes en la carne de pollo aportando al crecimiento de resistencia a los antibióticos. La detección de esta bacteria multirresistente en la carne de pollo en los mercados requiere de una vigilancia constante y controles de calidad adecuados.

3.3.4 *M. morganii*

M. morganii (3 aislados, figura 19) dieron positivo en la mayoría de genes de resistencia a β -lactámicos en este estudio. Esta bacteria aunque se encuentra de manera natural en el intestino de animales y humanos, es reconocida como un patógeno oportunista que puede desarrollar diversas infecciones, como bacteriemias, ITU e infecciones en heridas (149).

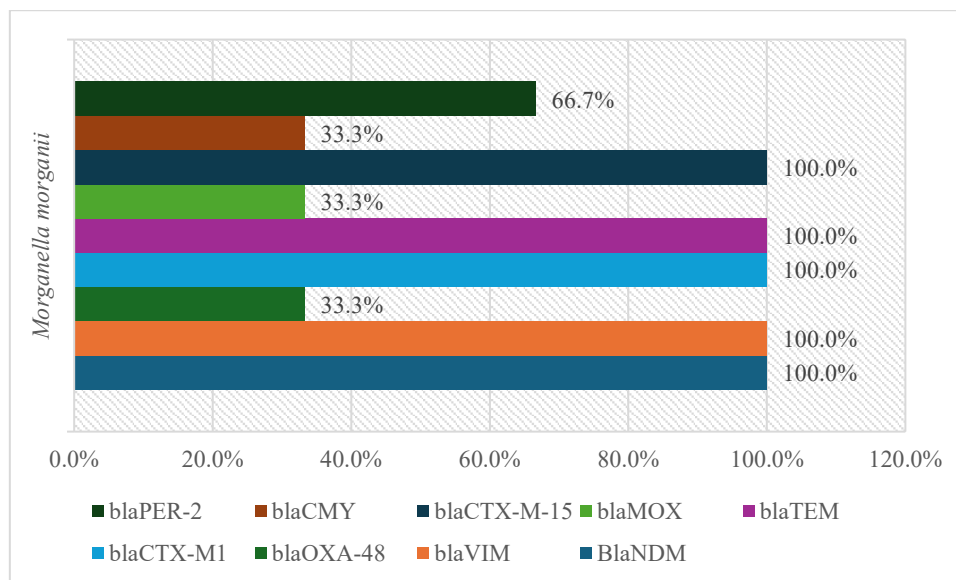


Figura 19. Representación gráfica de las muestras positivas para *M. morganii*.

M. morganii es positiva para genes que codifican carbapenemasas como blaNDM (100%), blaVIM (100%), ambas pertenecientes a las MBL y blaOXA-48 (33.3%). Estudios realizados en mercados de Asia reportaron la presencia de genes de MBL en la carne, indicando que los productos de la carne son reservorios para estos genes (150). La presencia de carbapenemasas en *M. morganii* es un problema de crecimiento y preocupación clínica a nivel mundial (149,151) y su presencia en la carne de pollo representa un riesgo en salud pública.

La prevalencia de ESBL como: blaCTX-M1 (100%), blaTEM (100%), blaCTX-M-15 (100%) y blaPER-2 (100%), es un mecanismo habitual en *M. morganii* tanto en los de origen animal (152) como en el ambiente clínico (153,154). La presencia de genes como blaCTX-M1 y blaCTX-M-15 ha incrementado producto del uso de los antibióticos (155).

En estas especies aisladas de *M. morganii* se detectó blaCMY (33.3%) y blaMOX (33.3%), ambas de tipo AmpC plasmídica, aunque *M. morganii* posee una β -lactamasa cromosómica tipo AmpC que brinda resistencia natural a penicilinas y amoxicilina de primera generación, la presencia de blaMOX y blaCMY sugiere que la bacteria ha adquirido genes de resistencia adicionales.

La presencia de *M. morganii* como una de las portadoras de múltiples genes de resistencia a β -lactámicos en la carne de pollo, la manipulación y el consumo de este facilitan la transparencia de estas bacterias resistentes a los seres humanos. Asimismo el manejo de la carne en mercados que tiene practica de higiene distintas aumenta el riesgo de contaminación cruzada y resulta en una preocupación en países en desarrollo.

3.3.5 *P. rettgeri* y *P. alcalifaciens*

P. rettgeri (1 aislado, figura 20) y *P. alcalifaciens* (1 aislado, figura 20), son bacterias asociadas a infecciones nosocomiales, ITU y bacteriemias, la presencia de estas bacterias en la carne de pollo sugiere una potencial vía de transmisión (156,157). Estudio reciente de metaanálisis reporto la presencia de *Providencia spp.* resistente a antibióticos en animales de granja y en los productos alimenticios a nivel global, recalando la importancia de su monitoreo (156).

En este estudio *P. rettgeri* es positivo para genes MBL, como: blaNDM (100%) y blaVIM (100%), también positivo para ESBL blaCTX-M1 (100%), blaTEM, blaCTX-M-15 (100%) y blaPER-2 (100%). Además de ser positivo para AmpC de tipo plasmídica, blaMOX (100%). La capacidad de *P. rettgeri* para tener y esparcir carbapenemasas se encuentra estudiado con reportes de blaNDM-10 aislados de ambientes clínicos (158) y la detección de producción de genes de resistencia que codifican para carbapenemasas en aves de corral en China (159). Sin embargo, esta ausencia de blaOXA-48 y blaCMY en estas bacterias aunque la presencia de otros genes de resistencia, sugieren una diversidad en los mecanismos de resistencia.

En cuanto a *P. alcalifaciens* fue positivo para ESBL como: blaCTX-M1, blaTEM, blaCTX-M-15 y blaPER-2, todos positivos (100%), la presencia del tipo AmpC plasmídico que es blaMOX (100%) y la presencia de MBL, gen blaVIM (100%). Aunque *P. alcalifaciens* tiene una frecuencia de reporte menor en la cadena alimentaria a comparación de otras especies de *Enterobacteriaceae*, la capacidad que tiene para albergar genes de resistencia la puede llegar en convertir en un patógeno con interés emergente. La presencia de estos genes en esta especie podría con llegar a investigación más exhaustiva (156,157,160).

Estas bacterias presentan un perfil de multiresistencia presentes en la carne de pollo. *P. rettgeri* y *P. alcalifaciens* pueden actuar como vehículos para la transferencia de genes de resistencia a otras bacterias o causar infecciones oportunistas en los consumidores afectando más a consumidores que poseen un sistema inmunocomprometido. Al ser bacterias menos comunes, su vigilancia también debe ser necesaria para el entendimiento de la resistencia a los antibióticos.

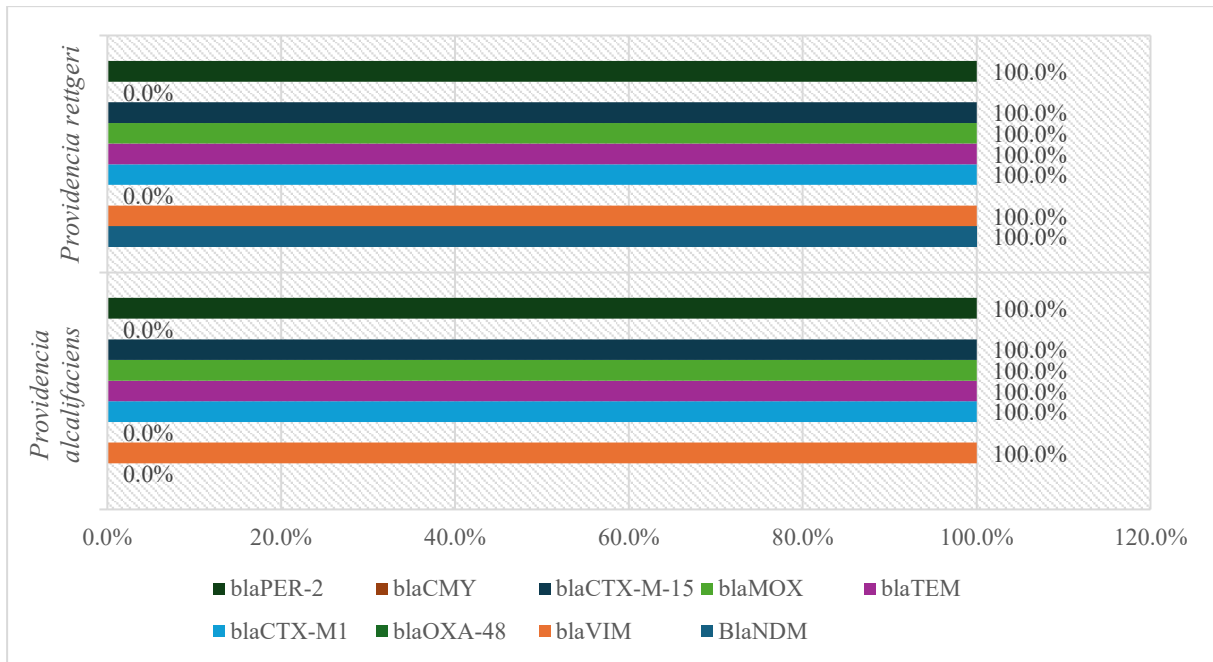


Figura 20. Representación gráfica de las muestras positivas para *P. rettgeri* y *P. alcalifaciens*.



Capítulo IV

Conclusiones

PRIMERA:

Se logró recolectar las muestras de carne de pollo eviscerada destinada para el consumo humano de los tres mercados de Arequipa (Mercado Mayorista Acomare, Mercado Nueva Esperanza y Mercado San Camilo), con un periodo de recolección de muestras semanalmente. Manteniendo las muestras estables en una hielera.

SEGUNDA:

A partir de las muestras de carne de pollo evisceradas se logró aislar diversas colonias bacterianas utilizando técnicas de microbiología y agar base. También se logró utilizar la sangre de humano lisada como suplemento para el agar y lograr la correcta formulación del medio.

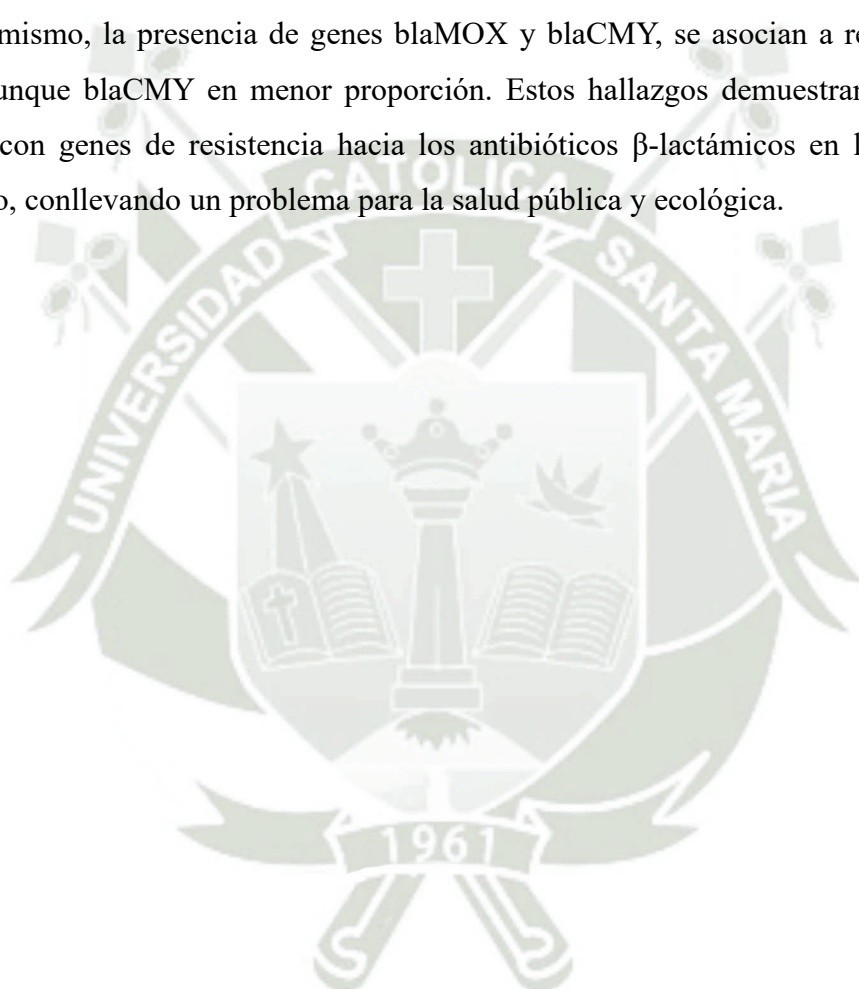
TERCERA:

Se logró la correcta identificación bacteriana mediante la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF MS identificando a las bacterias aisladas de la carne de pollo. Se identificaron dos familias que predominan, *Enterobacteriaceae* y *Aeromonadaceae*. Predominando especies como: *Proteus mirabilis* (41.4%) y *Aeromonas sp* (38.6%). Sin embargo, también se identificaron otras especies, pero en menor proporción, como: *Aeromonas sobria* (5.7%), *Aeromonas veronii* (4.3%), *Escherichia coli* (2.9%), *Morganella morganii* (2.9%), *Aeromonas caviae* (1.4%), *Providencia alcalifaciens* (1.4%) y *Providencia rettgeri* (1.4%). Estas bacterias identificadas son de gran relevancia clínica y para la inocuidad alimentaria. La identificación mediante MALDI-TOF MS garantiza confiabilidad y rapidez en los resultados, ya que estos son obtenidos en 48 h.

CUARTA:

Se logró determinar la presencia de nueve genes de resistencia que codifican para β -lactamasas, comprendiendo las cuatro clases de Ambler (A, B, C y D), siendo: blaCTX-M1, blaCTX-M15, blaCMY, blaTEM, blaPER-2, blaNDM, blaMOX, blaVIM y blaOXA-48. La identificación de estos genes se logró a través de la técnica de PCR convencional con primers específicos para la zona de interés en el ADN bacteriano. Los resultados mostraron la amplia distribución de estos genes de resistencia en la carne de pollo eviscerado. Los productos de la PCR mostraron una mayor cantidad de resultados positivos para ESBL como: blaTEM, blaCTX-M1 y blaCTX-

M15, los cuales resultaron identificados en bacterias como: *Proteus mirabilis*, en las especies de *Aeromonas* y *Escherichia coli*; lo que recae la preocupación ya que alguna de las bacterias puede ser reservorio de estos genes. Sin embargo, otra preocupación importante es el hallazgo de genes que confieren resistencia a carbapenems, los cuales son considerados antibióticos de última línea, identificando el gen blaOXA-48 en los aislados de *P. mirabilis* y *Aeromonas spp.*, además, hay muestras positivas para los genes blaNDM y blaVIM, son MBL, encontrándose en la mayoría de bacterias aisladas (*P. mirabilis*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii* y *Aeromonas spp.*). Asimismo, la presencia de genes blaMOX y blaCMY, se asocian a resistencia de tipo AmpC, aunque blaCMY en menor proporción. Estos hallazgos demuestran la presencia de bacterias con genes de resistencia hacia los antibióticos β -lactámicos en la carne de pollo eviscerado, conllevando un problema para la salud pública y ecológica.



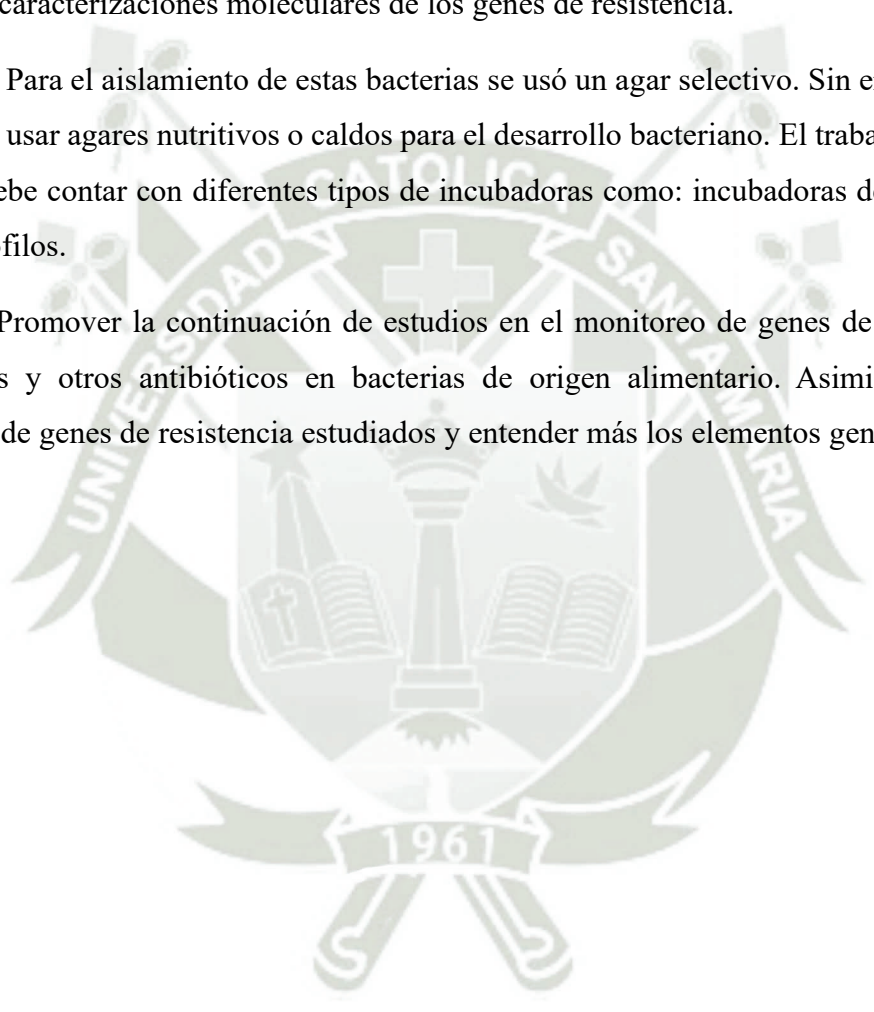
Capítulo V

Recomendaciones

Primero. Se recomienda continuar con vigilancia epidemiológica y la resistencia antimicrobiana en cadenas de producción alimentaria, asimismo posibles contaminaciones cruzadas como el agua o por parte de los colaboradores. además estas vigilancia deben tener el aporte de caracterizaciones moleculares de los genes de resistencia.

Segundo. Para el aislamiento de estas bacterias se usó un agar selectivo. Sin embargo también se pueden usar agares nutritivos o caldos para el desarrollo bacteriano. El trabajo que se vaya a realizar debe contar con diferentes tipos de incubadoras como: incubadoras de anaerobiosis y microaerófilos.

Tercero. Promover la continuación de estudios en el monitoreo de genes de resistencia a β -lactámicos y otros antibióticos en bacterias de origen alimentario. Asimismo ampliar la búsqueda de genes de resistencia estudiados y entender más los elementos genéticos móviles.



Referencias Bibliográficas.

1. PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS [Internet]. 2024 ene. Disponible en: <https://www.fao.org/documents/card/es?details=cc9026en>
2. Gallo M, Ferrara L, Calogero A, Montesano D, Naviglio D. Relationships between food and diseases: What to know to ensure food safety. Vol. 137, Food Research International. Elsevier Ltd; 2020.
3. Ministerio de Salud. Ley del Ministerio de Salud (MINSA) N° 27657. En Lima; 2002.
4. Ministerio de Salud. Norma Sanitaria para el Almacenamiento de Alimentos Termiandos Destinados al Consumo Humano. el 6 de febrero de 2015;1.
5. Perez-Perez GI, Kienesberger S. Foodborne Infections and Intoxications. 2012.
6. Garcia SN, Osburn BI, Jay-Russell MT. One Health for Food Safety, Food Security, and Sustainable Food Production. Vol. 4, Frontiers in Sustainable Food Systems. Frontiers Media S.A.; 2020.
7. Urban-Chmiel R, Marek A, Stępień-Pyśniak D, Wieczorek K, Dec M, Nowaczek A, et al. Antibiotic Resistance in Bacteria—A Review. Vol. 11, Antibiotics. MDPI; 2022.
8. Muteeb G, Rehman MT, Shahwan M, Aatif M. Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review. Pharmaceuticals. el 15 de noviembre de 2023;16(11):1615.
9. Cayetano Y. ML, Urquijo R. J. La Seguridad Alimentaria y Nutricional: Factores y Metodologías. 2023.
10. Velazquez-Meza ME, Galarde-López M, Carrillo-Quiróz B, Alpuche-Aranda CM. Antimicrobial resistance: One Health approach. Vol. 15, Veterinary World. Veterinary World; 2022. p. 743–9.
11. Suárez C, Gudiol F. Beta-lactam antibiotics. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27(2):116–29.

12. Zuazo J, Amarista M. Factores sociodemográficos y económicos que influyeron en el consumo de carne de pollo y otras aves en el Perú durante el período 2016- 2020. *Salud y Tecnología Veterinaria*. el 12 de julio de 2023;11(1):26–36.
13. Mak PHW, Rehman MA, Kiarie EG, Topp E, Diarra MS. Production systems and important antimicrobial resistant-pathogenic bacteria in poultry: a review. Vol. 13, *Journal of Animal Science and Biotechnology*. BioMed Central Ltd; 2022.
14. Kumar H, Bhardwaj K, Kaur T, Nepovimova E, Kuča K, Kumar V, et al. Review detection of bacterial pathogens and antibiotic residues in chicken meat: a review. Vol. 9, *Foods*. MDPI AG; 2020.
15. Hashem MA, El-Mahallawy HS, Moursi M, El-Fattah RA, Enany M. Beta-lactam and Fluoroquinolone Resistant Extraintestinal *Escherichia coli* from Broiler Chickens and Ducks: Public Health Threat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2022;73(4):4747–56.
16. Saenz-García CE, Castañeda-Serrano P, Mercado Silva EM, Alvarado CZ, Nava GM. Insights into the identification of the specific spoilage organisms in chicken meat. *Foods*. 2020;9(2).
17. El-Saeed BA, Elshebrawy HA, Zakaria AI, Abdelkhalek A, Imre K, Morar A, et al. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* and Other Gram-Negative Species Isolated from Native Egyptian Chicken Carcasses. *Trop Med Infect Dis*. el 1 de septiembre de 2024;9(9).
18. İnat G, Sırıken B, Çiftci A, Erol İ, Başkan C, Yıldırım T. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae species in ground beef and chicken meat. *Int J Food Microbiol*. el 2 de agosto de 2023;398.
19. Pastorino LF. La seguridad alimentaria – un concepto pretencioso. *Przegląd Prawa Rolnego*. el 21 de diciembre de 2020;(2(27)):183–205.
20. Food Summit FAO. Declaration of the world summit on food security. *World Food Summit*. 2009;16–8.
21. Fung F, Wang HS, Menon S. Food safety in the 21st century. Vol. 41, *Biomedical Journal*. Elsevier B.V.; 2018. p. 88–95.

22. Dugassa Fufa D. Food Safety. En: Health Risks of Food Additives - Recent Developments and Trends in Food Sector [Working Title] [Internet]. IntechOpen; 2023. Disponible en: <https://www.intechopen.com/online-first/86307>
23. Ramirez-Hernandez A, Galagarza OA, Álvarez Rodriguez M V., Pachari Vera E, Valdez Ortiz M del C, Deering AJ, et al. Food safety in Peru: A review of fresh produce production and challenges in the public health system. Compr Rev Food Sci Food Saf. el 1 de noviembre de 2020;19(6):3323–42.
24. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú. Reglamento de la Ley de Inocuidad de los Alimentos. Decreto Supremo No. 034-2008-AG. Lima; 2008.
25. Decreto Legislativo N° 1062 que Aprueba la Ley de Inocuidad de los Alimentos. el 28 de junio de 2008;
26. Ministerio de Agricultura. SENASA. 2012;1.
27. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. PLAN OPERATIVO INSTITUCIONAL CONSISTENCIADO CON EL PRESUPUESTO INSTITUCIONAL DE APERTURA 2023 PLIEGO: SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA-SENASA. Peru; 2022 dic.
28. Organización Mundial de la Salud. Zoonosis [Internet]. 2020 [citado el 21 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>
29. Moutou F. Las zoonosis, entre humanos y animales. agosto de 2020;
30. Geronimo RKM, Capani JC, Solis OLN, de Dios Aguilar Sánchez J, Chauca AME. Anthropogenic features of zoonotic cycles in Perú. Bol Malariol Salud Ambient. el 1 de marzo de 2023;63(2):338–49.
31. Laatsch R D. Origin and History of the Chicken. University of Wisconsin-Madison [Internet]. [citado el 17 de septiembre de 2024]; Disponible en: <https://livestock.extension.wisc.edu/articles/origin-and-history-of-the-chicken/>
32. Zoe Gautier. Gallus gallus - Red junglefowl. Animal Diversity Web [Internet]. [citado el 17 de septiembre de 2024]; Disponible en: https://animaldiversity.org/accounts/Gallus_gallus/

33. José A, Atuesta R, Batista-Bayona PA, Roso-Molina MA. LA GALLINA Gallus gallus domesticus, UN SER SENTIENTE Y PRODUCTIVO. 2023; Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/371948963>
34. Al-Nasser A, Al-Khalaifa H, Al-Saffar A, Khalil F, Al-Bahouh M, Ragheb G, et al. Overview of chicken taxonomy and domestication. Worlds Poult Sci J. junio de 2007;63(2):295.
35. POULTRY DEVELOPMENT REVIEW. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2013. 4–5 p.
36. La Carne de Pollo Aportes Nutricionales. Buenos Aires ;
37. Carnes y Productos Cárnicos. :407–8.
38. Huaicha LA, Palau H, Senesi SI. El Sistema de Agronegocios Avícola de Perú. Situación Actual y Perspectivas. Vol. 43. 2023.
39. Boletín Estadístico Mensual de la “Producción y Comercialización de Productos Avícolas” Año: 2023. Peru; 2023.
40. Boletín Estadístico Mensual de la “Producción y Comercialización de Productos Avícolas”. Perú; 2024.
41. Shao L, Chen S, Wang H, Zhang J, Xu X, Wang H. Advances in understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage. Vol. 118, Trends in Food Science and Technology. Elsevier Ltd; 2021. p. 822–32.
42. Odeyemi OA, Alegbeleye OO, Strateva M, Stratev D. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. Compr Rev Food Sci Food Saf. el 1 de marzo de 2020;19(2):311–31.
43. Chen J, Zhang J, Wang N, Xiao B, Sun X, Li J, et al. Critical review and recent advances of emerging real-time and non-destructive strategies for meat spoilage monitoring. Vol. 445, Food Chemistry. Elsevier Ltd; 2024.
44. Grudlewska-Buda K, Bauza-Kaszewska J, Wiktorczyk-Kapischke N, Budzyńska A, Gospodarek-Komkowska E, Skowron K. Antibiotic Resistance in Selected Emerging Bacterial Foodborne Pathogens—An Issue of Concern? Vol. 12, Antibiotics. MDPI; 2023.

45. Kim J, Ahn J. Emergence and spread of antibiotic-resistant foodborne pathogens from farm to table. Vol. 31, Food Science and Biotechnology. The Korean Society of Food Science and Technology; 2022. p. 1481–99.
46. Owusu-Doubreh B, Appaw WO, Abe-Inge V. Antibiotic residues in poultry eggs and its implications on public health: A review. Vol. 19, Scientific African. Elsevier B.V.; 2023.
47. Xu C, Kong L, Gao H, Cheng X, Wang X. A Review of Current Bacterial Resistance to Antibiotics in Food Animals. Vol. 13, Frontiers in Microbiology. Frontiers Media S.A.; 2022.
48. Fernández-Bravo A, Figueras MJ. An update on the genus *Aeromonas*: Taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. Vol. 8, Microorganisms. MDPI AG; 2020.
49. Janda JM, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. Vol. 23, Clinical Microbiology Reviews. 2010. p. 35–73.
50. Bánki O, Roskov Y, Vandepitte L, DeWalt RE, Remsen D, Schalk P, et al. Catalogue of Life Checklist [Internet]. Leiden, Netherlands: Catalogue of Life; 2021. Disponible en: <https://www.catalogueoflife.org>
51. Yu D, Banting G, Neumann NF. A Review of the Taxonomy, Genetics and Biology of the Genus *Escherichia* and the Type Species *Escherichia coli*.
52. Rock C, Donnenberg MS. Human Pathogenic Enterobacteriaceae. En: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2014.
53. Connie R. M, Donald C. L. Textbook of Diagnostic Microbiology - E-Book. En: Denene L, Connie R. M, Donald C. L, editores. 7a ed. Washington, DC; 2022 [citado el 8 de abril de 2025]. p. 430–1. Disponible en: https://books.google.es/books?id=L5iZEAAAQBAJ&dq=proteus+mirabilis+AND+%22taxonomy%22+AND+book&lr=&hl=es&source=gbs_navlinks_s
54. Liu H, Zhu J, Hu Q, Rao X. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. Vol. 50, International Journal of Infectious Diseases. Elsevier B.V.; 2016. p. 10–7.
55. Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov.,

- Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* el 1 de diciembre de 2016;66(12):5575–99.
56. Pearson Editor MM. *Proteus mirabilis* Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 2021 [Internet]. Disponible en: <http://www.springer.com/series/7651>
 57. Wang F, Zhang W, Niu D. Editorial: Foodborne Enterobacteriaceae of Animal Origin. Vol. 11, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
 58. Abd El-Ghany WA. A review on aeromoniasis in poultry: A bacterial disease of zoonotic nature. Vol. 17, *Journal of Infection in Developing Countries*. *Journal of Infection in Developing Countries*; 2023. p. 1–9.
 59. Abd El-Ghany WA. A review on aeromoniasis in poultry: A bacterial disease of zoonotic nature. Vol. 17, *Journal of Infection in Developing Countries*. *Journal of Infection in Developing Countries*; 2023. p. 1–9.
 60. Parker JL, Shaw JG. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. Vol. 62, *Journal of Infection*. 2011. p. 109–18.
 61. Junior Parra-Vera H, Guillermo Farfán-Cano G, Colombia Buele-Chica D. Trends in Infection and Global Health *Aeromonas veronii* an emerging pathogen: A brief review. Vol. 3. 2023.
 62. Hassan A, Bola O, Haassan AO, Ojo BO, Abdulrahman AO. *Escherichia coli* as a Global Pathogen [Internet]. Vol. 3, *AJOSR*. 2021. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/353244552>
 63. Martinez-Medina M. Special issue: Pathogenic *Escherichia coli*: Infections and therapies. Vol. 10, *Antibiotics*. MDPI AG; 2021. p. 1–2.
 64. Geurtsen J, de Been M, Weerdenburg E, Zomer A, McNally A, Poolman J. Genomics and pathotypes of the many faces of *Escherichia coli*. Vol. 46, *FEMS Microbiology Reviews*. Oxford University Press; 2022.
 65. Hrustemović E, Đedibegović J. Review of *Escherichia coli* pathogens and food-borne antibiotic resistance to prevention [Internet]. 2021. Disponible en: <https://cabidigitallibrary.org>

66. Bandy A. Ringing bells: *Morganella morganii* fights for recognition. Vol. 182, Public Health. Elsevier B.V.; 2020. p. 45–50.
67. Hafiz TA, Alghamdi GS, Alkudmani ZS, Alyami AS, Almazyed A, Alhumaidan OS, et al. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Infections and Clinical Outcome at Tertiary Hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Infect Drug Resist.* 2024;17:571–81.
68. Chakkour M, Hammoud Z, Farhat S, El Roz A, Ezzeddine Z, Ghssein G. Overview of *Proteus mirabilis* pathogenicity and virulence. Insights into the role of metals. Vol. 15, *Frontiers in Microbiology.* Frontiers Media SA; 2024.
69. Armbruster CE, Mobley HLT, Pearson MM. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Infection . *EcoSal Plus.* el 31 de diciembre de 2018;8(1).
70. Shah MM, Odoyo E, Ichinose Y. Epidemiology and pathogenesis of providencia alcalifaciens infections. Vol. 101, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 2019. p. 290–3.
71. Abdallah M, Balshi A. First literature review of carbapenem-resistant *Providencia*. Vol. 25, *New Microbes and New Infections.* Elsevier Ltd; 2018. p. 16–23.
72. Ayyal Al-Gburi NM. Isolation and Molecular Identification and Antimicrobial Susceptibility of *Providencia* spp. From Raw Cow's Milk in Baghdad, Iraq. *Vet Med Int.* 2020;2020.
73. Bulach D, Carter GP, Albert MJ. Enteropathogenic *Providencia alcalifaciens*: A Subgroup of *P. alcalifaciens* That Causes Diarrhea. *Microorganisms.* el 1 de julio de 2024;12(7).
74. Jamal A, ultan M. Antibiotics in Contemporary Medicine: Advances, Obstacles, and the Future. *Jurnal Multidisiplin Ilmu.* 2023;02(02).
75. Spagnolo F, Trujillo M, Dennehy JJ. Why Do Antibiotics Exist? [Internet]. 2021. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/mbio>
76. Cook MA, Wright GD. The past, present, and future of antibiotics [Internet]. Vol. 14, *Sci. Transl. Med.* 2022. Disponible en: <https://www.science.org>
77. Lewis K. The Science of Antibiotic Discovery. Vol. 181, *Cell.* Cell Press; 2020. p. 29–45.

78. Hoffman PS. Antibacterial discovery: 21st century challenges. *Antibiotics*. el 1 de mayo de 2020;9(5).
79. Cook MA, Wright GD. The past, present, and future of antibiotics. *Sci Transl Med*. el 10 de agosto de 2022;14(657).
80. Chinemerem Nwobodo D, Ugwu MC, Oliseloke Anie C, Al-Ouqaili MTS, Chinedu Ikem J, Victor Chigozie U, et al. Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *J Clin Lab Anal*. el 10 de septiembre de 2022;36(9).
81. Baene Férrez I. Resistencia Bacteriana: Principios Fundamentales para la Práctica Quirúrgica. 1998;13:174–80.
82. Calderón G, Médico General R•. Resistencia Antimicrobiana: Microorganismos más Resistentes y Antibióticos con Menor Actividad. *Revista Medica de Costa Rica y Centroamericana LXXIII*. el 27 de septiembre de 2016;757–63.
83. Oromí Durich J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina Integral*. diciembre de 2000;36(10):367–70.
84. Pacios O, Blasco L, Bleriot I, Fernandez-Garcia L, Ambroa A, López M, et al. (p)ppGpp and its role in bacterial persistence: New challenges. *Antimicrob Agents Chemother*. el 1 de octubre de 2020;64(10).
85. Baran A, Kwiatkowska A, Potocki L. Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
86. Mora-Ochomogo M, Lohans CT. β -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: From covalent inhibitors to substrates. Vol. 12, *RSC Medicinal Chemistry*. Royal Society of Chemistry; 2021. p. 1623–39.
87. Balsalobre L, Blanco A, Alarcón T. Beta-Lactams. En: *Antibiotic Drug Resistance* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2019. p. 57–72. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119282549.ch3>
88. Kang SJ, Kim DH, Lee BJ. Metallo- β -lactamase inhibitors: A continuing challenge for combating antibiotic resistance. *Biophys Chem*. el 1 de junio de 2024;309.

89. Suárez C, Gudiol F. Beta-lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):116–29.
90. SB G, AA M, HB L, A M, SI I, M A. Chemistry, mode of action, bacterial resistance, classification and adverse effects of beta-lactam antibiotics: A review. *International Journal of Dermatology Research*. el 1 de enero de 2023;5(1):11–6.
91. Astocondor-Salazar L. Betalactamasas: la evolución del problema. *Revista Peruana de Investigación en Salud*. el 31 de diciembre de 2018;2(2):42–9.
92. Ahmed DA, Ahmed DA. BETA-LACTAMASES ENZYMES : MECHANISM AND CLASSIFICATION [Internet]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/354208594>
93. Nagshetty K, Shilpa BM, Patil SA, Shivannavar CT, Manjula NG. An Overview of Extended Spectrum Beta Lactamases and Metallo Beta Lactamases. *Adv Microbiol*. 2021;11(01):37–62.
94. Kaderabkova N, Bharathwaj M, Furniss RCD, Gonzalez D, Palmer T, Mavridou DAI. The biogenesis of β -lactamase enzymes. Vol. 168, *Microbiology (United Kingdom)*. Microbiology Society; 2022.
95. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. Vol. 3, *JAC-Antimicrobial Resistance*. Oxford University Press; 2021.
96. Carcione D, Siracusa C, Sulejmani A, Leoni V, Intra J. Old and new beta-lactamase inhibitors: Molecular structure, mechanism of action and clinical use. Vol. 10, *Antibiotics*. MDPI; 2021.
97. Yu K, Huang Z, Liu X, Gao H, Bai X, Sun Z, et al. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in China: Epidemiology and evolutionary analyses. *Journal of Infection*. el 1 de abril de 2025;90(4).
98. Rastuti MR, Budayanti NNS, Dwija IBNP. Various types of extended spectrum β -lactamases: a literature review. *Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. el 5 de diciembre de 2023;3(2):29–34.

99. Kimani RW. A review of Carbapenems Resistance in the Current World [Internet]. Vol. 1, Journal of Medical and Biomedical Laboratory Sciences Research. 2024. Disponible en: <http://www.jmblsr.com>
100. D B, Saikumar C. AmpC β -Lactamases in Enterobacteriaceae - A Mini Review. Int J Life Sci Pharma Res. el 1 de noviembre de 2023;
101. San N, Aung MS, Urushibara N, San T, Maw WW, Lwin MM, et al. Genetic Diversity of CMY Beta-Lactamase Genes in Clinical Isolates of Escherichia coli in Myanmar: Identification of Three Novel Types and Updated Phylogenetic Classification of blaCMY. Microbial Drug Resistance. el 1 de mayo de 2020;26(5):497–504.
102. Maldonado N, Robledo C, Robledo J. La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. 2018;22(1):35–45.
103. Alizadeh M, Yousefi L, Pakdel F, Ghotaslou R, Rezaee MA, Khodadadi E, et al. MALDI-TOF Mass Spectroscopy Applications in Clinical Microbiology. Vol. 2021, Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences. Hindawi Limited; 2021.
104. Darie-Ion L, Whitham D, Jayathirtha M, Rai Y, Neagu AN, Darie CC, et al. Applications of MALDI-MS/MS-Based Proteomics in Biomedical Research. Vol. 27, Molecules. MDPI; 2022.
105. Lévesque S, Dufresne PJ, Soualhine H, Domingo MC, Bekal S, Lefebvre B, et al. A Side by Side Comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS Technology for Microorganism Identification in a Public Health Reference Laboratory. PLoS One. el 1 de diciembre de 2015;10(12).
106. Arora N, Chaudhary A, Prasad A. Editorial: Methods and applications in molecular diagnostics. Vol. 10, Frontiers in Molecular Biosciences. Frontiers Media SA; 2023.
107. de Dios L T, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamento de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. MediGraphic [Internet]. mayo de 2013;2:70–8. Disponible en: www.medigraphic.org.mx
<http://www.medigraphic.com/rid>
www.medigraphic.org.mx
108. Azimee MA, Azeemi MA. Polymerase Chain Reaction (PCR) [Internet]. 2022 may. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/362948650>

109. Zhu H, Zhang H, Xu Y, Laššáková S, Korabečná M, Neužil P. PCR past, present and future. Vol. 69, BioTechniques. Future Science Ltd; 2020. p. 317–25.
110. Germán F, Clemente T, David F, Valencia M. Taq polimerasa: historia, características y aplicaciones. Colección de ESMOS. el 1 de marzo de 2023;
111. Rahman M, Uddin M, Sultana R, Moue A, Setu M. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. 2013;4(1):30–6.
112. Serrato Díaz A, Flores Rentería L, Aportela Cortez J, Sierra Palacios E. PCR: reacción en cadena de la polimerasa [Internet]. 2014 ene. Disponible en: www.biologia.com.
113. He Y, Capobianco J, Armstrong CM, Chen CY, Counihan K, Lee J, et al. Detection and Isolation of *Campylobacter* spp. from Raw Meat. *Journal of Visualized Experiments*. el 1 de febrero de 2024;2024(204).
114. United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service MLG 41.07 Isolating and Identifying *Campylobacter jejuni/coli/lari* from Poultry Rinsate, Sponge and Raw Product Samples. 2022.
115. Lior H. New, Extended Biotyping Scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and “*Campylobacter laridis*”. Vol. 20, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. 1984.
116. Bourassa L, Butler-Wu SM. Chapter 2 - MALDI-TOF Mass Spectrometry for Microorganism Identification. En: Sails A, Tang YW, editores. *Methods in Microbiology* [Internet]. Academic Press; 2015. p. 37–85. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0580951715000161>
117. Shafee T, Lowe R. Eukaryotic and prokaryotic gene structure. *WikiJournal of Medicine* [Internet]. 2017;4(1). Disponible en: https://en.wikiversity.org/wiki/WikiJournal_of_Medicine/Eukaryotic_and_prokaryotic_gene_structure
118. İnat G, Sırken B, Çiftci A, Erol İ, Başkan C, Yıldırım T. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae species in ground beef and chicken meat. *Int J Food Microbiol*. agosto de 2023;398:110228.
119. Voets GM, Fluit AC, Scharringa J, Cohen Stuart J, Leverstein-van Hall MA. A set of multiplex PCRs for genotypic detection of extended-spectrum β -lactamases,

- carbapenemases, plasmid-mediated AmpC β -lactamases and OXA β -lactamases. *Int J Antimicrob Agents*. abril de 2011;37(4):356–9.
120. Bibbal D, Dupouy V, Ferré JP, Toutain PL, Fayet O, Prère MF, et al. Impact of Three Ampicillin Dosage Regimens on Selection of Ampicillin Resistance in *Enterobacteriaceae* and Excretion of *bla* TEM Genes in Swine Feces. *Appl Environ Microbiol*. agosto de 2007;73(15):4785–90.
121. Lin M, Wu X, Yan Q, Ma Y, Huang L, Qin Y, et al. Incidence of antimicrobial-resistance genes and integrons in antibiotic-resistant bacteria isolated from eels and aquaculture ponds. *Dis Aquat Organ*. el 7 de julio de 2016;120(2):115–23.
122. Verma S, Kalyan RK, Gupta P, Khan MD, Venkatesh V. Molecular Characterization of Extended Spectrum β -Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates and Their Antibiotic Resistance Profile in Health Care-Associated Urinary Tract Infections in North India. *J Lab Physicians*. el 20 de junio de 2023;15(02):194–201.
123. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):119–23.
124. Fierro FF. Electroforesis de ADN.
125. Stratev D, Vashin I, Rusev V. Characteristics of bacteria from the genus *Aeromonas* Prevalence and survival of *Aeromonas* spp. in foods—a review. Vol. 163, *Revue Méd. Vét*. 2012.
126. Jaiswal A, Khan A, Yogi A, Singh S, Pal AK, Soni R, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* from chicken meat. *3 Biotech*. el 10 de abril de 2024;14(4):107.
127. Wong MHY, Wan HY, Chen S. Characterization of Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Isolated from Chicken Carcasses. *Foodborne Pathog Dis*. febrero de 2013;10(2):177–81.
128. Alchalaby AY, Rasheed BY, Al-AAlim AM. Molecular detection of some virulence gene in *Proteus mirabilis* isolated from chicken and human. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. el 1 de enero de 2025;39(1):53–8.
129. Shah MM, Odoyo E, Ichinose Y. Epidemiology and Pathogenesis of *Providencia alcalifaciens* Infections. *Am J Trop Med Hyg*. el 7 de agosto de 2019;101(2):290–3.

130. Murray M, Salvatierra G, Dávila-Barclay A, Ayzanoa B, Castillo-Vilcahuaman C, Huang M, et al. Market Chickens as a Source of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in a Peri-Urban Community in Lima, Peru. *Front Microbiol.* el 2 de marzo de 2021;12.
131. Casella T, Rodríguez MM, Takahashi JT, Ghiglione B, Dropa M, Assunção E, et al. Detection of blaCTX-M-type genes in complex class 1 integrons carried by Enterobacteriaceae isolated from retail chicken meat in Brazil. *Int J Food Microbiol.* marzo de 2015;197:88–91.
132. Palmieri N, Hess C, Hess M, Alispahic M. Sequencing of five poultry strains elucidates phylogenetic relationships and divergence in virulence genes in *Morganella morganii*. *BMC Genomics.* el 24 de diciembre de 2020;21(1):579.
133. Dixit OVA, Behruznia M, Preuss AL, O'Brien CL. Diversity of antimicrobial-resistant bacteria isolated from Australian chicken and pork meat. *Front Microbiol.* el 19 de febrero de 2024;15.
134. Pilati GVT, Salles GBC, Savi BP, Dahmer M, Muniz EC, Filho VB, et al. Isolation and Characterization of *Escherichia coli* from Brazilian Broilers. *Microorganisms.* el 18 de julio de 2024;12(7):1463.
135. Cen J qi, Yang Z, Liu X li, Wang N lin, Wu S yi, Min L, et al. Co-infection with *Proteus mirabilis* and extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* aggravated liver injury in chickens by disrupting the jejunal barrier. *Poult Sci.* agosto de 2025;104(8):105369.
136. Rodríguez C, Radice M, Perazzi B, Castro S, Juárez J, Santini† P, et al. Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* marzo de 2005;23(3):122–6.
137. Alqurashi E, Elbanna K, Ahmad I, Abulreesh HH. Antibiotic Resistance in *Proteus mirabilis*: Mechanism, Status, and Public Health Significance. *J Pure Appl Microbiol.* el 1 de septiembre de 2022;16(3):1550–61.
138. Ramatla T, Ramaili T, Lekota K, Mileng K, Ndou R, Mphuthi M, et al. Antibiotic resistance and virulence profiles of *Proteus mirabilis* isolated from broiler chickens at abattoir in South Africa. *Vet Med Sci.* el 15 de marzo de 2024;10(2).

139. Wong MHY, Wan HY, Chen S. Characterization of Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Isolated from Chicken Carcasses. *Foodborne Pathog Dis.* febrero de 2013;10(2):177–81.
140. Parrales Elsa L, Hipatia Betty CF, Damaris Lucero RÁ. *Proteus mirabilis*: factores de patogenicidad y mecanismos de resistencias que influyen en infecciones del tracto urinario en pacientes ambulatorios, Latinoamérica. *Revista Científica de Salud BIOSANA.* el 2 de agosto de 2024;4(2):186–99.
141. Dias C, Serra CR, Simões LC, Simões M, Martinez-Murcia A, Saavedra MJ. Extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase-producing *Aeromonas* species in wild animals from Portugal. *Veterinary Record.* el 24 de mayo de 2014;174(21):532.
142. Chen PL, Ko WC, Wu CJ. Complexity of β -lactamases among clinical *Aeromonas* isolates and its clinical implications. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* diciembre de 2012;45(6):398–403.
143. Fauzi NNFNM, Hamdan RH, Mohamed M, Ismail A, Zin AAM, Mohamad NFA. Prevalence, antibiotic susceptibility, and presence of drug resistance genes in *Aeromonas* spp. isolated from freshwater fish in Kelantan and Terengganu states, Malaysia. *Vet World.* el 10 de agosto de 2021;2064–72.
144. QU FT, WANG WQ, LIU Q, ZHOU HJ, HU JR, DU XL, et al. Genetic Diversity, Antibiotic Resistance, and Pathogenicity of *Aeromonas* Species from Food Products in Shanghai, China. *Biomedical and Environmental Sciences.* el 1 de septiembre de 2022;35(9):842–53.
145. Cardozo MV, Liakopoulos A, Brouwer M, Kant A, Pizauro LJJ, Borzi MM, et al. Occurrence and Molecular Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriales Recovered From Chicken, Chicken Meat, and Human Infections in Sao Paulo State, Brazil. *Front Microbiol.* el 22 de junio de 2021;12.
146. Murray M, Salvatierra G, Dávila-Barclay A, Ayzanoa B, Castillo-Vilcahuaman C, Huang M, et al. Market Chickens as a Source of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in a Peri-Urban Community in Lima, Peru. *Front Microbiol.* el 2 de marzo de 2021;12.
147. Gundran RS, Cardenio PA, Villanueva MA, Sison FB, Benigno CC, Kreausukon K, et al. Prevalence and distribution of blaCTX-M, blaSHV, blaTEM genes in extended-

- spectrum β - lactamase- producing *E. coli* isolates from broiler farms in the Philippines. *BMC Vet Res.* el 5 de diciembre de 2019;15(1):227.
148. Ahadini S, Tyasningsih W, Effendi M, Khairullah A, Kusala M, Fauziah I, et al. Molecular detection of blaTEM-encoding genes in multidrug-resistant *Escherichia coli* from cloacal swabs of ducks in Indonesia farms. *Open Vet J.* 2025;15(1):92.
 149. Xiang G, Lan K, Cai Y, Liao K, Zhao M, Tao J, et al. Clinical Molecular and Genomic Epidemiology of *Morganella morganii* in China. *Front Microbiol.* el 28 de septiembre de 2021;12.
 150. Odoi JO, Takayanagi S, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T. Third-Generation Cephalosporin Resistance in Intrinsic Colistin-Resistant Enterobacterales Isolated from Retail Meat. *Antibiotics.* el 24 de noviembre de 2021;10(12):1437.
 151. Seck A, Diop A, Ndiaye B, Dieng A, Ba A, Diop A, et al. Phenotypic Detection of Enterobacterales Strains Susceptible of Producing OXA-48 Carbapenemase. *Adv Microbiol.* 2024;14(02):115–21.
 152. Ramírez-Castillo FY, Guerrero-Barrera AL, Avelar-González FJ. An overview of carbapenem-resistant organisms from food-producing animals, seafood, aquaculture, companion animals, and wildlife. *Front Vet Sci.* el 15 de junio de 2023;10.
 153. Rahman F, Sarker A. Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Distribution of blaCTX-M and blaTEM Genes Among ESBL-Producing *Morganella morganii* Isolated from Clinical Samples in Bangladesh. *IAR Journal of Medicine and Surgery Research [Internet].* 2025;6(1):2025. Disponible en: <https://doi.org/10.70818/iarjmsr.2025.v06i01.0161>
 154. Hassen B, Hammami S, Hassen A, Abbassi MS. Molecular mechanisms and clonal lineages of colistin-resistant bacteria across the African continent: a scoping review. *Lett Appl Microbiol.* el 1 de diciembre de 2022;75(6):1390–422.
 155. Oliveira PA de, Moura RA, Rodrigues GV, Lopes KFC, Zaniolo MM, Rubio KAJ, et al. Detection of extended spectrum beta-lactamases and resistance in members of the Enterobacteriaceae family isolated from healthy sheep and dogs in Umuarama, Paraná, Brazil. *Semin Cienc Agrar.* el 26 de abril de 2016;37(2):829.

156. Li Y, Shao K, Cai R, Liu Y, Liu X, Ni F, et al. Detection of NDM-1 and OXA-10 Co-Producing *Providencia rettgeri* Clinical Isolate. *Infect Drug Resist.* agosto de 2023;Volume 16:5319–28.
157. Coltro EP, Cafferati Beltrame L, da Cunha CR, Zamparette CP, Feltrin C, Benetti Filho V, et al. Evaluation of the resistome and gut microbiome composition of hospitalized patients in a health unit of southern Brazil coming from a high animal husbandry production region. *Frontiers in Antibiotics.* el 17 de enero de 2025;3.
158. Cen DJ, Sun RY, Mai JL, Jiang YW, Wang D, Guo WY, et al. Occurrence and Transmission of *bla* NDM -Carrying *Enterobacteriaceae* from Geese and the Surrounding Environment on a Commercial Goose Farm. *Appl Environ Microbiol.* el 27 de abril de 2021;87(10).
159. Jiang Y, Zhou K, Zhang P, Dong X, sun Z, Liang J, et al. Florfenicol-resistant, Rabbit-derived *Providencia Rettgeri* Isolate With 4 Copies of *floR* Genes in a Tandem-repeat Plasmid. 2021.
160. Piza-Buitrago A, Rincón V, Donato J, Saavedra SY, Duarte C, Morero J, et al. Genome-based characterization of two Colombian clinical *Providencia rettgeri* isolates co-harboring NDM-1, VIM-2, and other β -lactamases. *BMC Microbiol.* el 12 de diciembre de 2020;20(1):345.

Anexos.

ANEXO 1. Protocolo para preparación de Agar Skirrow

Agar: Skirrow (Oxoid®)

Muestra: Carne de pollo eviscerada

Se añadió 18.5 g de Agar base *Campylobacter* en 475 mL de agua destilada. Pasado el tiempo de esterilización en autoclave, se suplemento con 25 mL de sangre lisada de humano, realizando el lisado de la siguiente manera:

1. Se extrajeron en total 25 mL de sangre humana, las cuales fueron puestos en tubos con EDTA (para evitar la formación de coágulos).
2. Una vez puesto, se procedió a colocar la sangre en tubos falcón de 15 mL, el cual contenía agua destilada con un volumen de 3 mL, se esperó la acción rápida de la lisis de la sangre.
3. Una vez que el agar base es sacada del autoclave, se espera que se encuentre a una temperatura de 50 °C para que se añada la sangre y el suplemento selectivo (1 vial de suplemento selectivo de Preston *Campylobacter* modificado), que sirve para 500 mL de medio.
 - a. La preparación de este vial es añadir 5 mL de agua destilada estéril, esperar que se disuelva la pastilla y seguidamente verter el contenido en el matraz.
4. Finalmente el agar es vertido a las placas Petri descartables.

Composición (g/L):

Peptona de caseína	12.0
Peptona animal	5.0
Extracto de carne	3.0
Extracto de levadura	3.0
Cloruro de sodio	5.0
Almidón	1.0
Suplemento de skirrow	10.0
Inhibidor de skirrow	10.0

ANEXO 2. Protocolo para la identificación bacteriana mediante MALDI-TOF MS

Para la identificación de las colonias bacterianas es necesario que las colonias se encuentren puras y correctamente aisladas y no mayor con un periodo de incubación de 24 horas.

1. Las placas con las colonias perfectamente aisladas son llevadas al laboratorio de proteómica donde se realiza la identificación.
2. Se prepara el área de trabajo. El cual se limpia con alcohol de 70°, se trabajará cerca de un mechero. Se prepara las asas bacteriológicas descartables, la matriz MS-CHCA, el Slide y las muestras.
3. Con un Asa bacteriológica descartable, se extrae una muestra de la colonia, lo necesaria y se realiza un extendido en los spots del Slide.
4. Posteriormente se añadirá 1 μL de la matriz MS-CHCA (α -Ciano-4-hydroxycinnamic acid) en el spots y se dejará secar a temperatura ambiente por un tiempo de 5 min.
5. En el centro del Slide se encuentra spots control. Aquí se usó una cepa *Escherichia coli* ATCC 8739, como muestra control.
6. Los Slides son puestos en una placa metálica, con espacio hasta para cuatro slides. En este paso se debe de tener cuidado como la placa es introducida al equipo.
7. El equipo es programado por la persona encargada de su manejo.
8. Finalmente las muestras y los datos generados serán procesados mediante la plataforma VITEK® MS Plus/RUO SARAMIS.

ANEXO 3. Protocolo para la extracción de ADN bacteriano

Método empleado: Columnas de Sílice.

Kit: TIANamp Bacteria DNA Kit (TIANGEN®).

Muestra: Colonias bacterianas.

Nota: Los tampones GD y PW se añadieron volumen adecuado de etanol, según lo indicado en los frascos.

1. Se agrego 1 μL de la bacteria en un tubo Eppendorf con 200 μL de buffer GA, llevando a un vórtex hasta homogeneizar.
2. Después se agregó 20 μL de proteinasa K (homogeneizar).
3. Terminado, agregar 220 μL de tampón GB y homogeneizar bien por 15 s, seguidamente dejar incubar a 70 °C por 10 min.
4. Posteriormente agregar 220 μL de etanol (96 – 100%) al tupo Eppendorf y homogeneizar.
5. Se agrego el contenido total en un tubo de recolección en la columna de centrifuga CB3, llevado a la centrifuga a 12 000 rpm o 13 400 x g por 1 min. Se descarta el flujo y la columna es colocada en un tubo de recolección.
6. Se agrego 500 μL de buffer GD a la columna de centrifugación CB3 y centrifugar a 12 000 rpm por 1 min. Después se colocó la columna de centrifugación en un tubo de recolección.
7. Se agrego 600 μL del buffer PW y centrifugar a 12 000 rpm por 1 min. Se descarta lo centrifugado y repetir este paso.

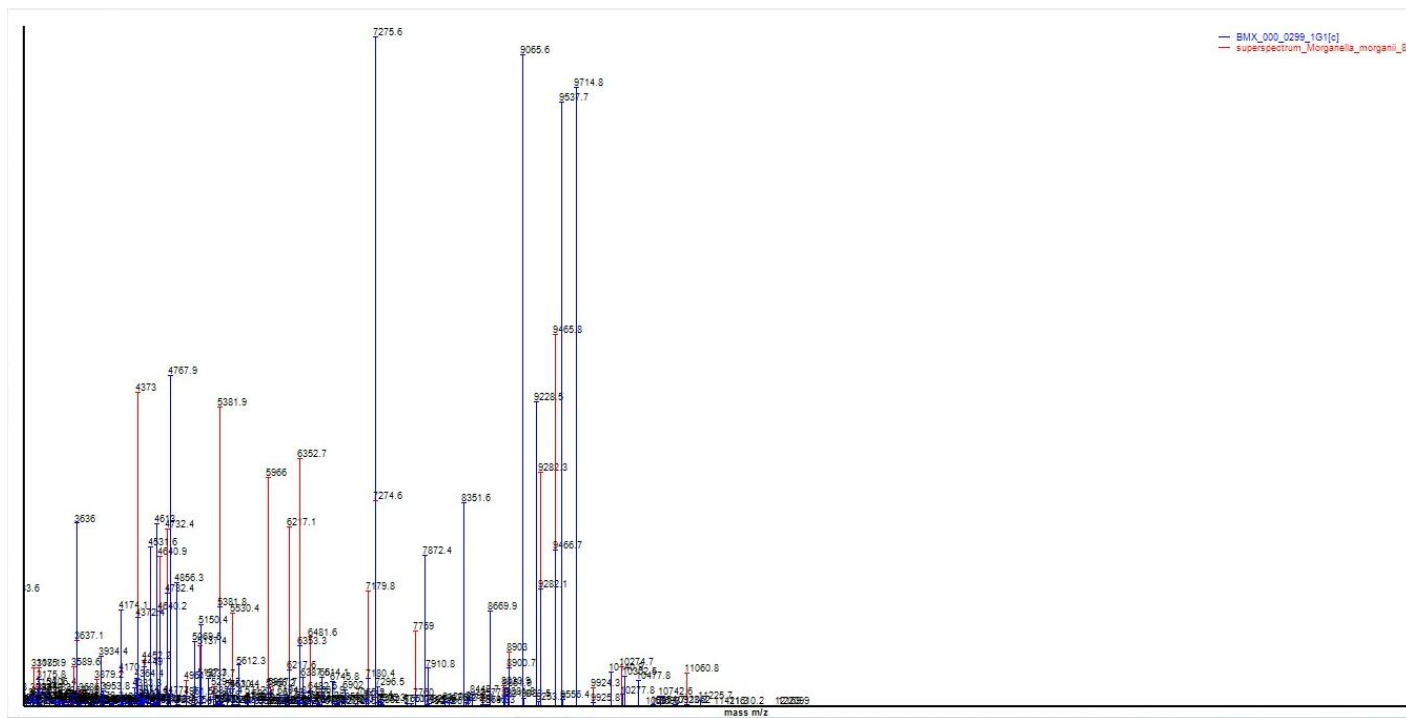
Para finalizar, la columna CB3 se colocó en un tubo nuevo y limpio de recolección y se agregó 100 μL de tampón TE. Incubada a temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente se centrifugo a 12 000 rpm por 3 min.

ANEXO 4. Identificación bacteriana mediante MALDI-TOF MS

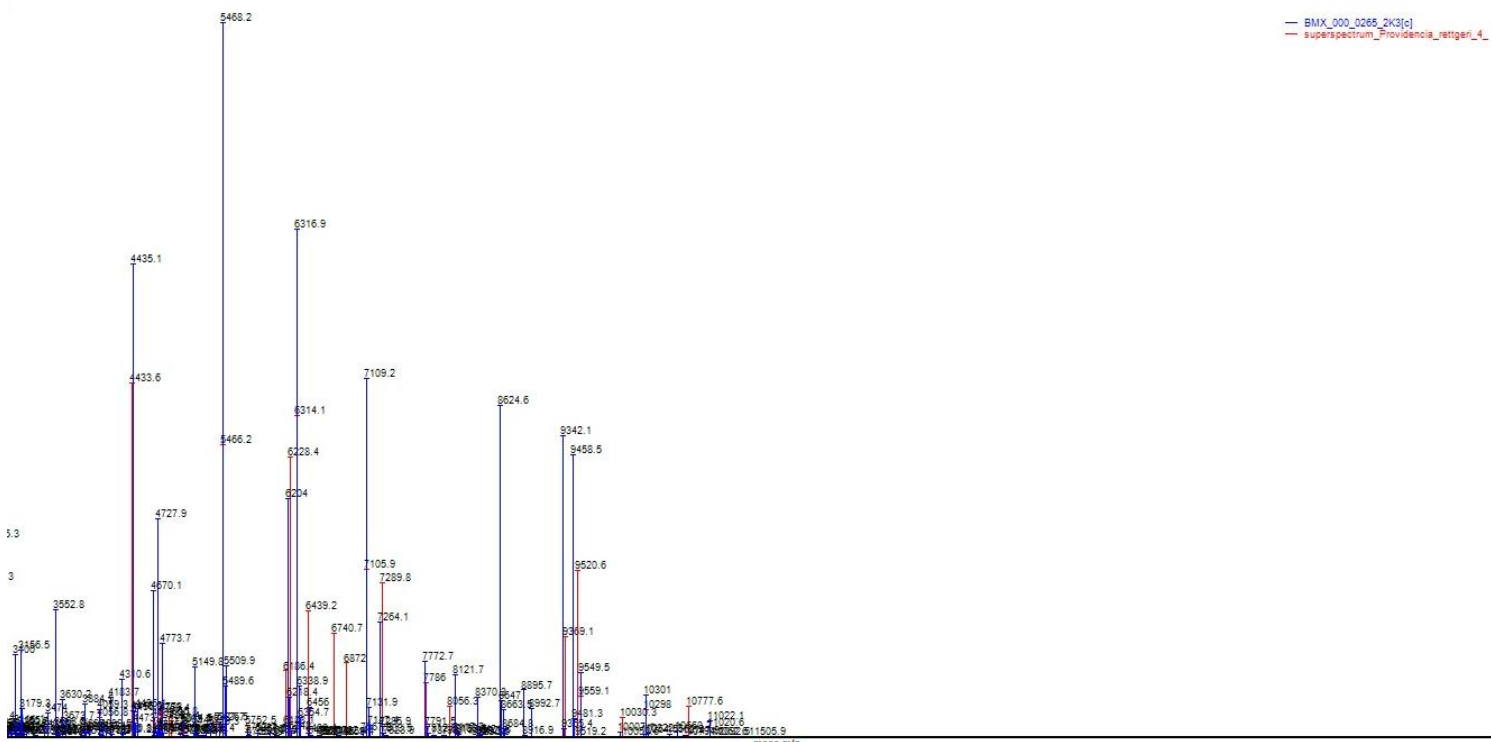
Familia	Género y especie	Porcentaje de ID
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	77.7%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Morganella morganii</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	82.4%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	96.2%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	85.1%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	77.7%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	78.5%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	93.1%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Morganella morganii</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	92.6%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	85.7%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	85.6%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	96.2%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	81.2%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	80.7%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	82.4%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	77.7%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	92.4%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	82.4%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Morganella morganii</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	96.6%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	86.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	92.9%

<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	96.2%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	99.3%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	82.4%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	93.1%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	86.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	99.3%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.8%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	82.1%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	84.1%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	93.1%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	99.3%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas punctata (caviae)</i>	92.0%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	99.9%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	81.2%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	78.0%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	92.5%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	88.8%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	81.4%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	85.1%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	83.8%
<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	92.7%

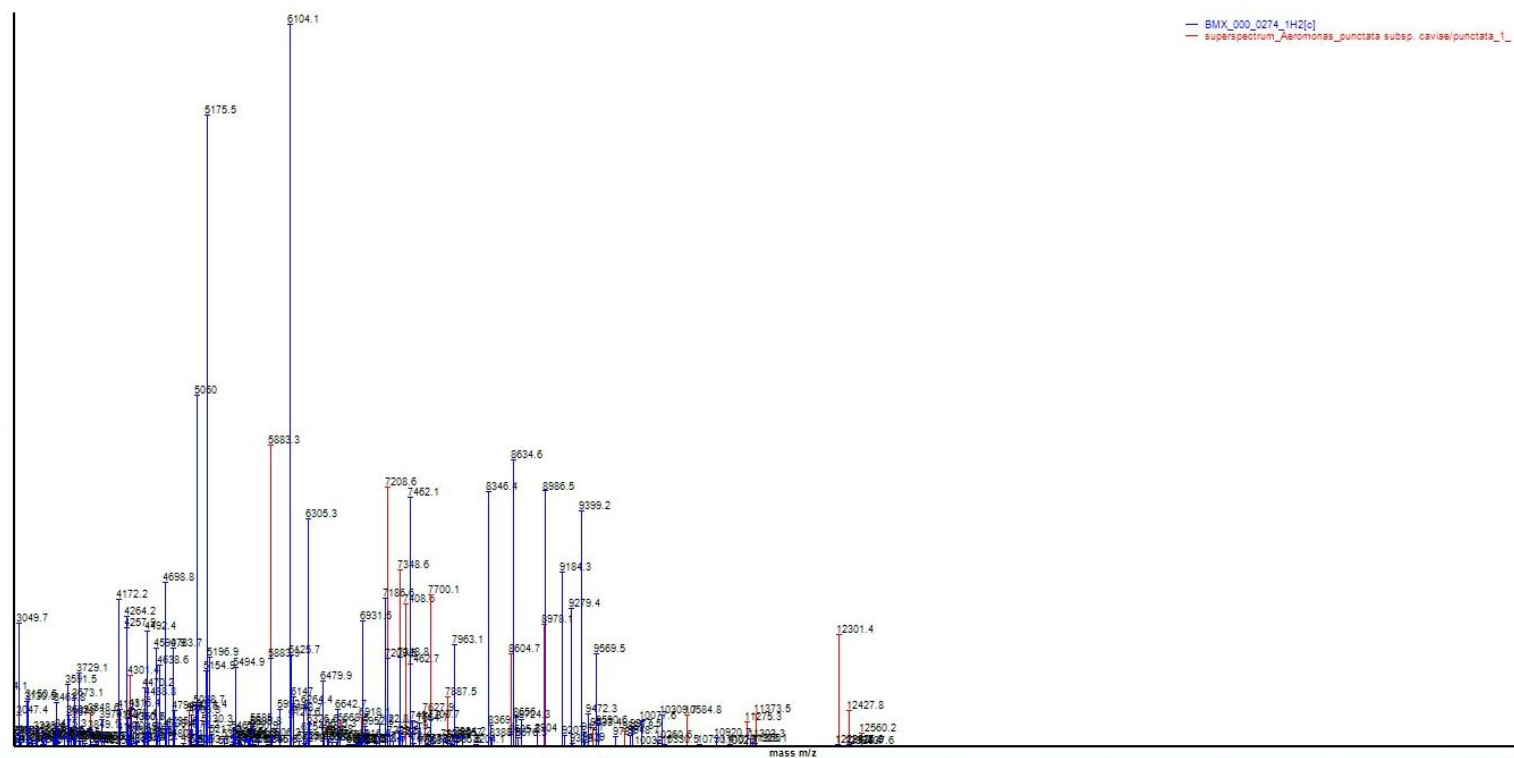
Anexo 5. Espectros proteicos de algunos identificados



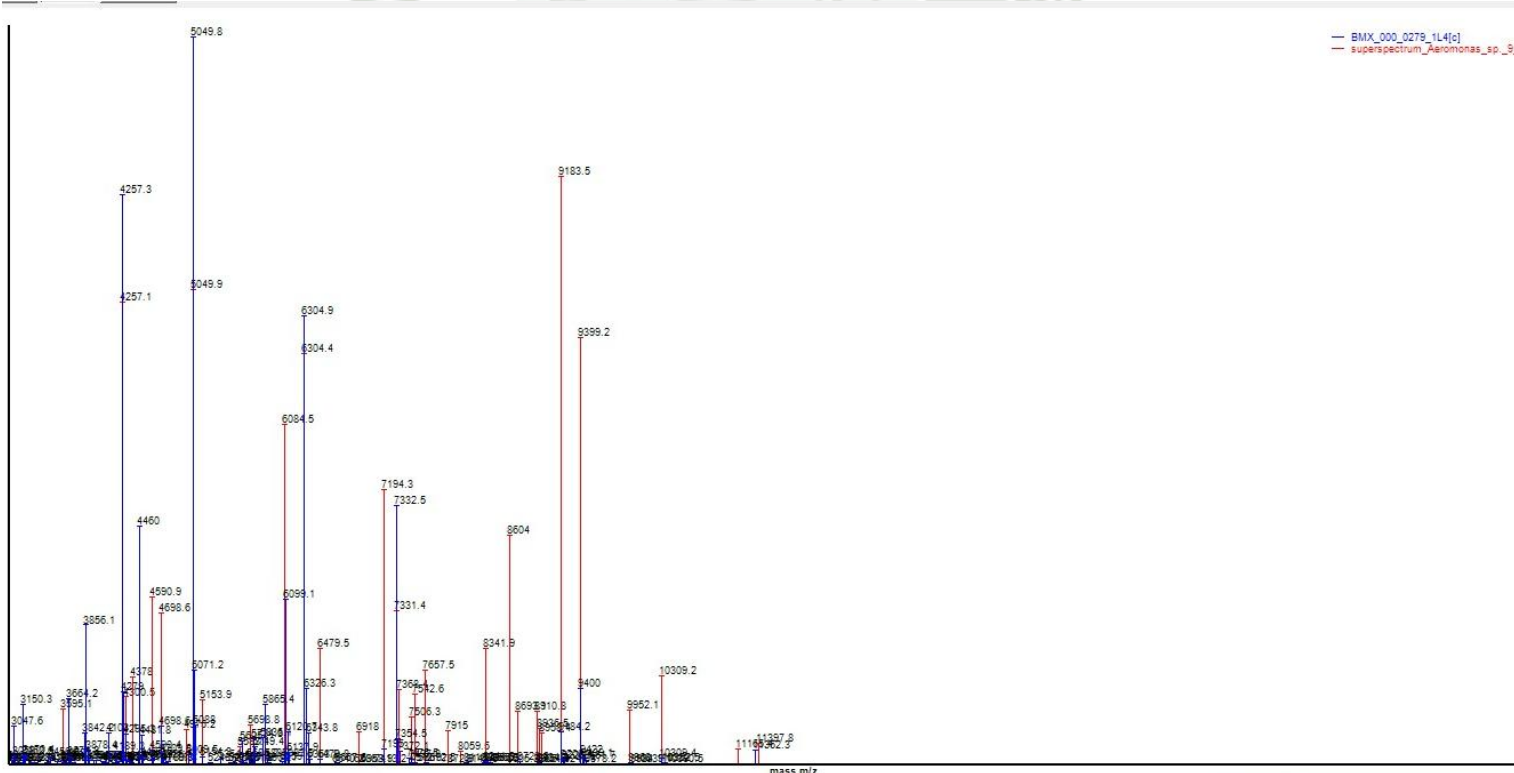
Espectro de picos de *Morganella morgani*



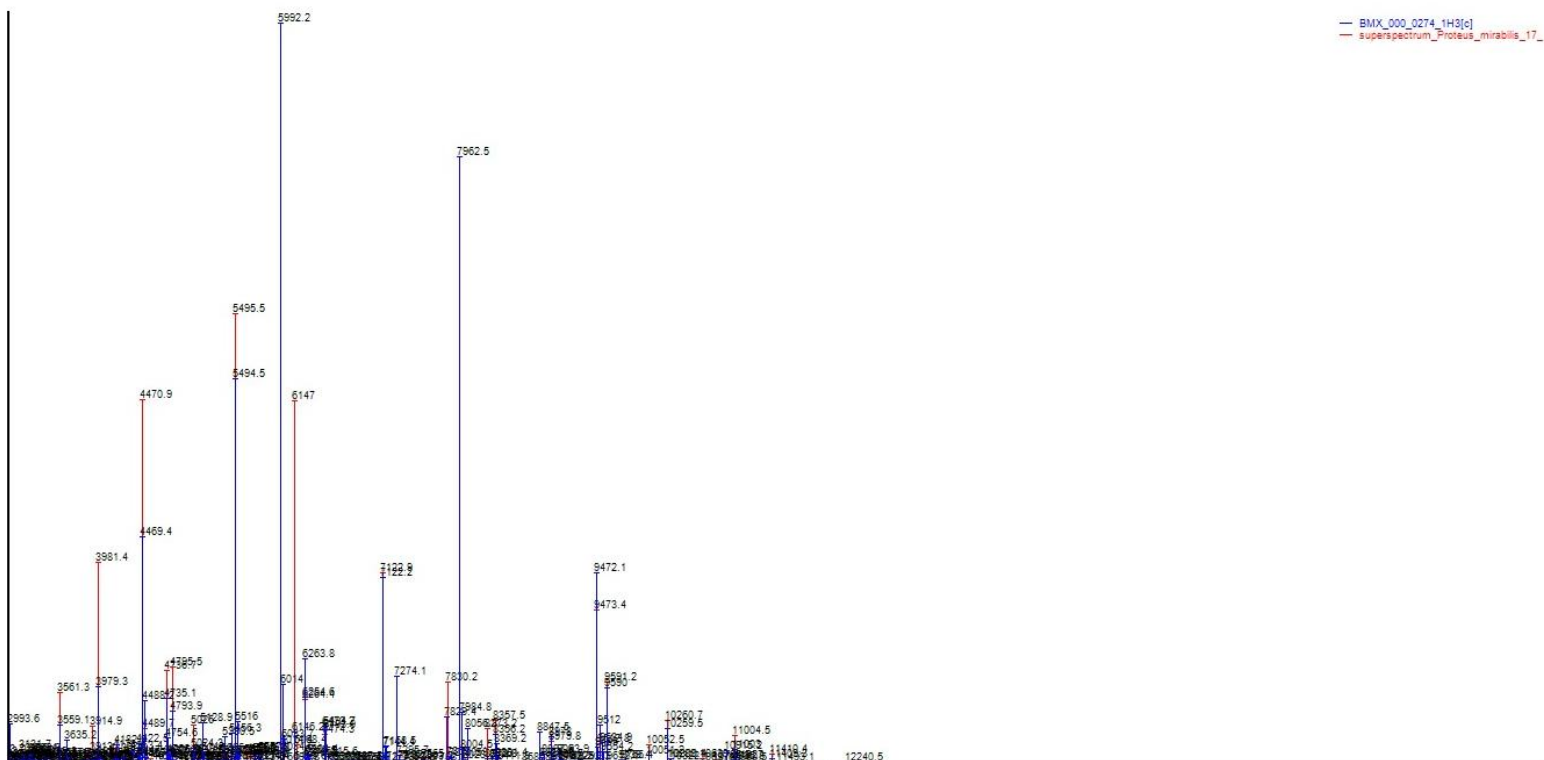
Espectro de picos de *Providencia rettgeri*



Espectro de picos de *Aeromonas caviae*



Espectro de picos de *Aeromonas spp.*

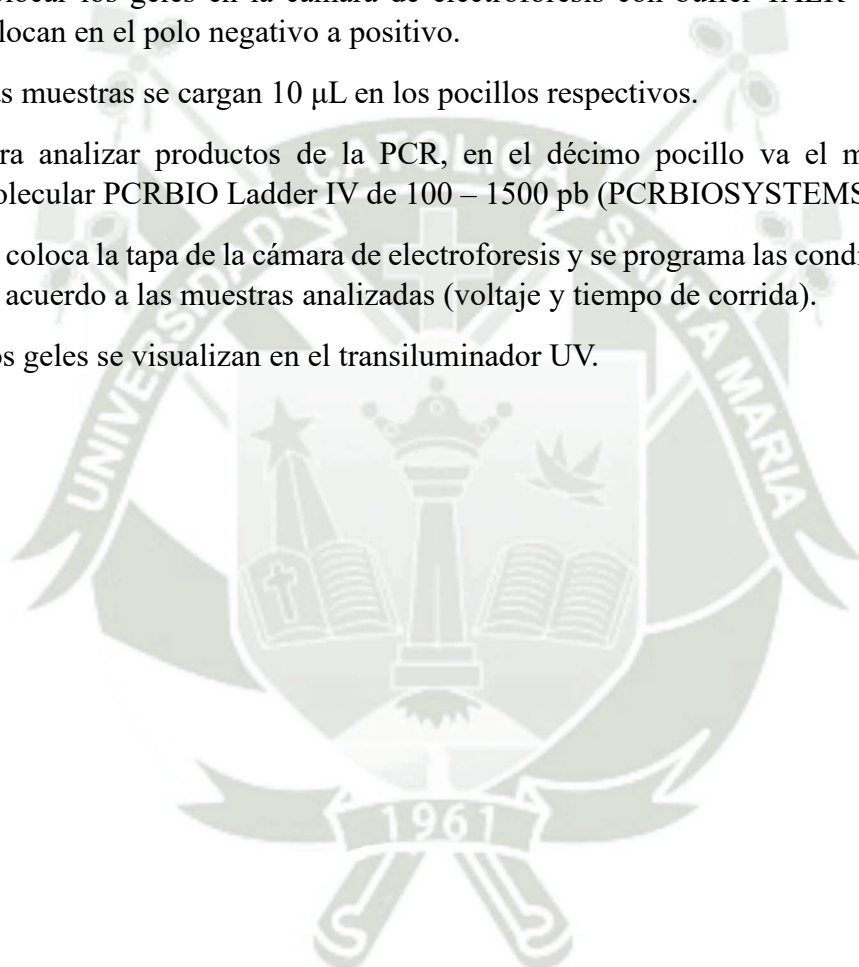


Espectro de picos de *Proteus mirabilis*



ANEXO 6. Protocolo para el análisis electroforético de genes de resistencia

1. Pesar 6g de agarosa en 300 mL de buffer TAE 1X, para un gel 2%.
2. Se mezcla y calentó en el microondas la solución hasta tener completamente disuelto.
3. Añadir 2 μ L de GelRed y homogeneizar.
4. Colocar la solución en los moldes con los peines.
5. Se dejó seca a temperatura ambiente. Una vez enfriados se retira los peines.
6. Colocar los geles en la cámara de electroforesis con buffer TAER 1X. Los geles se colocan en el polo negativo a positivo.
7. Las muestras se cargan 10 μ L en los pocillos respectivos.
8. Para analizar productos de la PCR, en el décimo pocillo va el marcador de peso molecular PCR BIO Ladder IV de 100 – 1500 pb (PCRBIOSYSTEMS) con 5 μ L.
9. Se coloca la tapa de la cámara de electroforesis y se programa las condiciones de corrida de acuerdo a las muestras analizadas (voltaje y tiempo de corrida).
10. Los geles se visualizan en el transiluminador UV.



ANEXO 7. Concentración de ADN bacteriano

Código	CC (ng/μL)	Código	CC (ng/μL)	Código	CC (ng/μL)
AEB-001	206.50	AEB-025	164.10	AEB-051	122.70
AEB-002	265.00	AEB-026	252.60	AEB-052	125.30
AEB-003	112.60	AEB-027	150.00	AEB-053	186.80
AEB-004	212.70	AEB-028	215.00	AEB-054	120.40
AEB-005	310.90	AEB-029	164.40	AEB-055	162.50
AEB-006	186.10	AEB-030	265.10	AEB-056	300.50
AEB-007	204.10	AEB-031	305.00	AEB-057	208.00
AEB-008	267.80	AEB-032	191.00	AEB-058	338.40
AEB-009	397.50	AEB-033	187.10	AEB-059	185.50
AEB-010	208.60	AEB-034	202.50	AEB-060	265.80
AEB-011	250.80	AEB-035	306.60	AEB-061	74.40
AEB-012	214.70	AEB-037	300.10	AEB-062	259.60
AEB-013	310.30	AEB-038	276.20	AEB-063	185.40
AEB-014	287.30	AEB-039	325.80	AEB-064	58.50
AEB-015	241.30	AEB-040	273.50	AEB-065	117.20
AEB-016	215.80	AEB-041	317.10	AEB-066	296.30
AEB-017	172.80	AEB-042	369.40	AEB-067	167.20
AEB-018	132.20	AEB-043	168.20	AEB-068	229.30
AEB-019	170.10	AEB-044	183.20	AEB-069	497.80
AEB-020	335.30	AEB-047	341.30	AEB-070	201.20
AEB-021	291.40	AEB-048	84.10	AEB-071	177.50
AEB-022	267.40	AEB-049	114.80	AEB-072	352.50
AEB-023	251.80	AEB-050	123.50	AEB-073	205.80
AEB-024	162.20	-	-	-	-

ANEXO 8. Valoración de la pureza del ADN bacteriano

Código	A260/A280	Código	A260/A280	Código	A260/A280
AEB-001	2.03	AEB-025	2.06	AEB-051	2.04
AEB-002	2.06	AEB-026	2.07	AEB-052	2.02
AEB-003	1.97	AEB-027	2.03	AEB-053	2.05
AEB-004	2.07	AEB-028	2.07	AEB-054	1.58
AEB-005	2.06	AEB-029	1.99	AEB-055	1.69
AEB-006	1.96	AEB-030	2.07	AEB-056	1.95
AEB-007	2.06	AEB-031	2.07	AEB-057	1.69
AEB-008	2.08	AEB-032	2.06	AEB-058	1.98
AEB-009	2.05	AEB-033	2.06	AEB-059	1.91
AEB-010	2.07	AEB-034	2.08	AEB-060	2.09
AEB-011	2.07	AEB-035	2.04	AEB-061	1.96
AEB-012	2.03	AEB-037	2.03	AEB-062	1.89
AEB-013	2.07	AEB-038	2.03	AEB-063	1.96
AEB-014	2.06	AEB-039	2.04	AEB-064	1.71
AEB-015	2.03	AEB-040	2.05	AEB-065	1.98
AEB-016	2.06	AEB-041	2.05	AEB-066	2.02
AEB-017	2.03	AEB-042	2.03	AEB-067	1.83
AEB-018	2.00	AEB-043	2.03	AEB-068	1.86
AEB-019	2.06	AEB-044	2.02	AEB-069	2.03
AEB-020	2.06	AEB-047	2.02	AEB-070	1.93
AEB-021	2.07	AEB-048	2.01	AEB-071	1.95
AEB-022	2.02	AEB-049	2.03	AEB-072	2.00
AEB-023	2.08	AEB-050	2.01	AEB-073	1.88
AEB-024	2.00	-	-	-	-