

PRESENCIA DE *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* MULTIRRESISTENTE A ANTIMICROBIANOS EN CARNE ADQUIRIDA EN MERCADOS TRADICIONALES EN LIMA

Lidia Ruiz-Roldán^{1,a}, Sandra Martínez-Puchol^{1,a}, Cláudia Gomes^{1,b}, Noemí Palma^{1,a}, Maribel Riveros^{2,c}, Karen Ocampo^{2,c}, David Durand^{2,c}, Theresa J. Ochoa^{2,3,d}, Joaquim Ruiz^{1,b}, Maria J. Pons^{4,b}

RESUMEN

Objetivos. El objetivo del presente estudio fue describir la presencia de *Enterobacteriaceae* en muestras de carne recolectadas en mercados tradicionales de Lima y establecer los niveles de resistencia a antimicrobianos y la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y AmpC en *Escherichia coli*. **Materiales y métodos.** Se recolectaron un total de 138 muestras de carne, 64 (46,4 %) de pollo, 44 (31,9 %) de carne de res y 30 (21,7%) de carne de cerdo. Las bacterias aisladas pertenecieron a 17 géneros diferentes, y específicamente 14 fueron clasificados como *Enterobacteriaceae*. Se analizó la sensibilidad frente a diez agentes antimicrobianos mediante el método de difusión de disco Kirby-Bauer, se determinó la presencia de BLEE y AmpC mediante las pruebas de doble disco y de inducción de imipenem-ceftazidima, respectivamente. **Resultados.** Los niveles de resistencia a los antimicrobianos fueron altos frente a trimetoprima-sulfametoxazol, ampicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico, ciprofloxacino y cloranfenicol. Existen diferencias significativas en los niveles de resistencia a los antibióticos según el tipo de carne (pollo, carne de res y cerdo) ($p < 0,05$). Los niveles de resistencia a múltiples antimicrobianos (MDR) fueron particularmente altos en pollo y cerdo (98,2 % y 86,4 %, respectivamente). Además, la presencia de BLEE en *Escherichia coli* aisladas de carne de pollo fue del 59,4 %. **Conclusiones.** Los niveles de resistencia a los antimicrobianos fueron altos frente a los antibióticos usados frecuentemente en humanos, se destaca el pollo y la res como potenciales reservorios de *Escherichia coli* productoras de BLEE y pAmpC, respectivamente.

Palabras clave: Carne; Alimentos; Resistencia a betalactamasas; Resistencia a multidrogas; *Escherichia coli*; Perú; América Latina (fuente: DeCS BIREME).

PRESENCE OF MULTIDRUG RESISTANT *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli* IN MEAT PURCHASED IN TRADITIONAL MARKETS OF LIMA

ABSTRACT

Objective. The objective of this study was to describe the presence of *Enterobacteriaceae* in meat samples collected in traditional markets of Lima and to establish the levels of antimicrobial resistance and the presence of extended spectrum beta-lactamases (BLEE) and AmpC in *Escherichia coli*. **Materials and Methods.** A total of 138 meat samples, 64 (46.4%) chicken, 44 (31.9%) beef and 30 (21.7%) pork were collected. The isolated bacteria belonged to 17 different genera and, specifically, 14 were classified as *Enterobacteriaceae*. Sensitivity to ten antimicrobial agents was analyzed using the Kirby-Bauer disc diffusion method, BLEE and AmpC were determined by double disc and imipenem-ceftazidime induction tests, respectively. **Results.** Antimicrobial resistance levels were high against trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin, tetracycline, nalidixic acid, ciprofloxacin and chloramphenicol. There are significant differences in antibiotic resistance levels depending on the type of meat (chicken, beef and pork) ($p < 0.05$). Multiple drug resistance (MDR) levels were particularly high in chicken and pork (98.2% and 86.4%, respectively). In addition, the presence of BLEE in *Escherichia coli* isolated from chicken meat was 59.4%. **Conclusions.** Multiple drug resistance levels were high compared to antibiotics frequently used in humans; chicken and beef are highlighted as potential reservoirs of BLEE and pAmpC-producing *Escherichia coli*, respectively.

Keywords: Meat; Food; Resistance to beta-lactamases; Multidrug resistance; *Escherichia coli*; Perú; Latin America (source: MeSH NLM).

¹ ISGlobal, Hospital Clínic - Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

² Universidad Peruana Cayetano Heredia, Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt. Lima, Perú.

³ Center for Infectious Disease, University of Texas School of Public Health. Houston, USA.

⁴ Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

^a Magister en Biología; ^b PhD en Biología; ^c licenciado en Biología; ^d medico infectólogo

Recibido: 15/06/2018 Aprobado: 12/09/2018 En línea: 28/09/2018

INTRODUCCIÓN

Una de las vías de entrada más importantes de los microorganismos al ser humano es a través de la cadena alimentaria. De los microorganismos ingeridos, son los patógenos los que producen enfermedades transmitidas por alimentos ⁽¹⁾. En todo el mundo, el consumo de alimentos contaminados ocasiona la muerte de dos millones de personas al año ⁽²⁾.

Diferentes miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, incluidas *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y los patotipos diarreagénicos de *Escherichia coli* (*E.coli*) son considerados microorganismos patógenos transmitidos por alimentos ⁽¹⁻³⁾. Las enterobacteriáceas, aunque se reportan en diferentes tipos de alimentos, se encuentran principalmente en productos derivados de la carne, debido a que forman parte de su microbiota intestinal ⁽³⁾. Del mismo modo, la presencia de *Salmonella* spp. está vinculada frecuentemente al consumo de pollo, huevos o sus productos derivados ⁽³⁾, mientras que las infecciones por *E. coli* productoras de Shiga toxina (STEC) se relacionan con el consumo de carne de vacuno ⁽⁴⁾.

La mayoría de los microorganismos que se aíslan de muestras de alimentos no son patógenos, teniendo a la *E. coli* como el ejemplo mejor caracterizado. Estos microorganismos son de gran relevancia por formar parte de la microbiota intestinal humana, actuando como reservorios de genes de resistencia a antibióticos ⁽⁵⁾. Estos genes pueden transferirse a otros microorganismos directamente (por ejemplo, mediante conjugación) o indirectamente (por ejemplo, mediante transformación después de la lisis bacteriana y la liberación de ADN en el entorno intestinal), pudiendo llegar a microorganismos patógenos durante el curso de infecciones o colonizaciones transitorias ⁽⁶⁾.

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud que sigue incrementándose a nivel mundial. En la mayoría de los países de bajos y medianos ingresos el problema está subestimado, principalmente por la escasez de estudios en estas regiones. Asimismo, los datos disponibles actualmente han mostrado un escenario preocupante, con altos niveles de resistencia a los antimicrobianos usados comúnmente ⁽⁷⁾. La presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) es uno de los mecanismos de resistencia a antimicrobianos más importantes ⁽⁷⁾. Estas enzimas suelen estar codificadas en las mismas estructuras genéticas que otros mecanismos de resistencia, lo que da lugar a fenotipos de multiresistencia a los antibióticos.

Otro mecanismo de resistencia (a las cefalosporinas) es el llamado AmpC mediado por plásmidos (pAmpC) que, a pesar de ser poco frecuente, también ha sido reportado en Perú, específicamente en muestras recolectadas en hospitales ⁽⁸⁾.

MENSAJES CLAVE

Motivación para realizar el estudio. Las bacterias presentes en carne, puede causar infecciones; además, pueden ser una importante vía de transmisión de la resistencia a los antibióticos.

Principales hallazgos. Los niveles de resistencia fueron altos sobre todo en aquellos antibióticos usados frecuentemente en humanos. La carne de pollo presentó los niveles de resistencia más elevados; además de *E.coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Implicancias. La presencia de bacterias multiresistentes y productoras de BLEE en la carne de expendio en los mercados de Lima es un importante problema de salud, esto podría deberse al uso indiscriminado de antibióticos en la producción cárnica.

En Perú se han reportado niveles extremadamente altos de resistencia a los antibióticos, siendo de especial preocupación los ocasionados por microorganismos patógenos productores de BLEE ⁽⁷⁾.

No se dispone de datos sobre la presencia de bacterias multiresistentes en productos cárnicos de los mercados tradicionales de Lima. Este estudio tiene como objetivo determinar la presencia de *Enterobacteriaceae* en muestras de diferentes tipos de carne (vacuno, cerdo y pollo) así como sus niveles de sensibilidad a antimicrobianos, en especial la presencia de BLEE y pAmpC.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO, MUESTRA Y PLAN DE MUESTREO

Se realizó un estudio de diseño descriptivo, transversal y prospectivo. Se recolectaron en total 138 muestras de carne, de las cuales 30 corresponden a cerdo (chuleta), 44 a vacuno (lomo) y 64 a pollo (pierna), de mercados tradicionales del norte (Comas, San Martín), centro (La Victoria, Cercado de Lima) y sur (Villa El Salvador) de Lima. Las muestras se recolectaron de forma aleatoria.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras se transportaron en bolsas estériles a 4 °C y se procesaron inmediatamente después de llegar al Laboratorio de Enfermedades Entéricas, Nutrición y Resistencia Antimicrobiana de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en un máximo de 4 h desde el momento de la compra. Luego, se extrajo 2,5 g de cada muestra, se enriqueció en caldos de Luria Bertani y de selenita durante una noche. Posteriormente, se sembró 500 µl en diferentes medios: agar Xylose Lisina Deoxicolato, agar Salmonella-Shigella, agar Mc Conkey y agar Hektoen ⁽⁹⁾. Cada muestra se procesó de acuerdo con las normas internacionales ISO 21567: 2004 para *Shigella*, e ISO 6579 para *Salmonella* ⁽¹⁰⁾.

IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

Los aislados bacterianos se identificaron por su crecimiento en los medios de cultivo, por su morfología en las colonias

y mediante técnicas bioquímicas convencionales ⁽¹¹⁾ y el kit de identificación de bacterias API® (Biomerieux, Marcy-l'Étoile, Francia). Las cepas aisladas identificadas como *E. coli*, se confirmaron mediante la amplificación del gen *uidA*, mientras que las identificadas como *Shigella* spp. o *Salmonella* spp. fueron confirmadas por la amplificación de los genes *ipaH* y *invA*, respectivamente ^(12,13). El resto de los microorganismos, así como los que presentaron discrepancias entre los procedimientos bioquímicos y por reacción en cadena de polimerasa (PCR) se identificaron mediante la amplificación y posterior secuenciación de un fragmento del gen *16S rRNA* ⁽¹⁴⁾. Se consideró sólo un aislamiento, cuando la misma especie se obtuvo más de una vez de la misma muestra.

DETECCIÓN DE *E. coli* DIARREOGÉNICAS

El carácter diarreogénico de las cepas de *E. coli* (*E. coli* enterotoxigénica, ETEC; *E. coli* enteropatogénica, EPEC; *E. coli* productora de toxina Shiga, STEC; *E. coli* enteroinvasiva, EIEC; *E. coli* difusamente adherente, DAEC) fueron confirmados por la técnica de PCR ⁽¹⁵⁾.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Se determinó la sensibilidad antimicrobiana frente a diez agentes antibacterianos, mediante el método de difusión en disco, siguiendo las directrices de la guía CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ⁽⁹⁾. Estos agentes incluyeron: ampicilina 10 µg/ml, amoxicilina más ácido clavulánico 20/10 µg/ml, imipenem 10 µg/ml, cloranfenicol 30 µg/ml, ácido nalidíxico 30 µg/ml, ciprofloxacina 5 µg/ml, nitrofurantoína 300 µg/ml, cotrimoxazol 1,25/23,75 µg/ml y tetraciclina 30 µg/ml. Además, para furazolidona 100 µg/ml y azitromicina 15 µg/ml. No existe un punto de corte específico en la guía CLSI para la furazolidona, por lo que se utilizó el punto de corte de la nitrofurantoína, y en el caso de la azitromicina se usó el punto de corte propuesto por Pons *et al.* ⁽¹⁶⁾.

Se seleccionó un grupo representativo de cepas de *E. coli* de cada perfil de resistencia para su inclusión en el presente estudio. Se determinó, además, la sensibilidad antibiótica a cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima y gentamicina. Seguidamente, se evaluó la presencia fenotípica de BLEE y pAmpC mediante la prueba de doble disco y la prueba de inducción de imipenem-ceftazidima, respectivamente. Se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 25922 como control en los antibiogramas. Se consideró como cepas multidrogasresistentes (MDR) a aquellas que mostraron resistencia, al menos a tres o más familias o grupo de antimicrobianos, no relacionados entre ellos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las tasas de resistencia antibacteriana en diferentes especies de animales se compararon mediante la prueba de Fisher y Chi cuadrado, según corresponda. Las diferencias obtenidas con un valor de $p \leq 0,05$ se consideraron

significativas. Se utilizó el software Stata 13.0 (Stata Corp., College Station, TX). Las frecuencias y porcentajes de la resistencia a los antibióticos se presentaron en las muestras de carne analizadas y solo frecuencias en las bacterias aisladas.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. En todo momento se mantuvo el anonimato de los puestos de expendio y de los vendedores que proporcionaron las muestras de estudio.

RESULTADOS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN LAS MUESTRAS

Se analizaron un total de 138 muestras; 30 de carne de cerdo, 44 de carne de res y 64 de pollo. Se identificaron 830 microorganismos pertenecientes a 17 géneros bacterianos, 14 (82,4 %) fueron de la familia *Enterobacteriaceae* (801 aislamientos), los tres (17,6 %) restantes fueron de las familias *Aeromonadaceae*, *Moraxellaceae* (solo aisladas de muestras de carne de res) y *Pseudomonaceae*.

Entre las especies identificadas, las más comunes fueron: *Escherichia coli* (407, 49 % de los aislados), *Providencia* spp. (112, 13,5 %), *Proteus* spp. (84, 10,1 %), *Citrobacter* spp. (59, 7,1 %) y *Enterobacter* spp. (48, 5,8 %). No se encontraron diferencias en el número de familias de microorganismos dentro de las muestras, se recuperaron 15 géneros diferentes en cada tipo de muestra específica. En general, los promedios de diferentes géneros por tipo de muestra fueron de 2,7 en el caso de la carne de cerdo y vacuno, y 3,2 en el caso de pollo. El género descrito con más frecuencia fue *Escherichia* spp. (todos identificados como *E. coli*), seguidos de *Providencia* spp., *Proteus* spp. (57 muestras, 41,3 %), *Citrobacter* spp. y *Enterobacter* spp. El género bacteriano más frecuente en las muestras de cerdo fue *Escherichia* (24 muestras, 80 %), seguido de *Providencia* spp. y *Enterobacter* spp. (cada uno en 14 muestras, 43,3 %). En las muestras de pollo, el género más frecuente fue *Escherichia* (61 muestras, 95,3 %), seguido de *Proteus* spp. (37 muestras, 57,8 %) y *Providencia* spp. (35 muestras, 54,7 %). En las muestras de carne de vacuno, se observó la presencia de *Escherichia* (31 muestras, 70,4 %), *Citrobacter* spp. (20 muestras, 45,5 %) y *Providencia* spp. (15 muestras, 34,1 %) (Tabla 1).

Asimismo, se encontró diferencias significativas en las frecuencias de los géneros según los tipos de muestra; así, *Salmonella* spp., *Proteus* spp. y *Escherichia* spp. fueron más frecuentes en las muestras de pollo que en las muestras de cerdo ($p < 0,05$; en los tres casos) o de carne de vacuno ($p < 0,05$; en los tres casos). Además, *Providencia*

Tabla 1. Especies bacterianas identificadas en muestras de carne procedentes de mercados tradicionales de Lima

| Microorganismos (830) | n † | Muestras de carne | | | | | | | |
|---------------------------------|-----|-------------------|------|------------|------|-------------|------|------------|------|
| | | Total (138) | | Pollo (64) | | Vacuno (44) | | Cerdo (30) | |
| Género y especie* | n † | n ‡ | % | n | % | n | % | n | % |
| <i>Enterobacteriaceae</i> (801) | | | | | | | | | |
| <i>Citrobacter</i> | 59 | 43 | 31,1 | 14 | 21,9 | 20 | 45,5 | 9 | 30,0 |
| <i>C. freundii</i> | 50 | 38 | 27,5 | 12 | 18,7 | 18 | 40,9 | 8 | 26,7 |
| spp | 9 | 5 | 2,8 | 2 | 3,1 | 2 | 4,5 | 1 | 3,3 |
| <i>Enterobacter</i> | 48 | 43 | 31,1 | 16 | 25,0 | 14 | 31,8 | 13 | 43,3 |
| <i>E. cloacae</i> | 14 | 15 | 10,9 | 7 | 10,9 | 4 | 9,1 | 4 | 6,3 |
| spp | 34 | 26 | 18,8 | 9 | 14,1 | 10 | 22,7 | 7 | 23,3 |
| <i>Escherichia</i> | 407 | 116 | 84,1 | 61 | 95,3 | 31 | 70,4 | 24 | 80,0 |
| <i>E. coli</i> | 407 | 116 | 84,1 | 61 | 95,3 | 31 | 70,4 | 24 | 80,0 |
| <i>Hafnia</i> | 13 | 13 | 9,4 | 6 | 9,4 | 5 | 11,4 | 2 | 6,6 |
| <i>H. alvei</i> | 13 | 13 | 9,4 | 6 | 9,4 | 5 | 11,4 | 2 | 6,6 |
| <i>Klebsiella</i> | 18 | 18 | 13,0 | 6 | 9,4 | 7 | 15,9 | 5 | 16,7 |
| <i>K. oxytoca</i> | 12 | 12 | 8,7 | 3 | 4,7 | 5 | 11,4 | 4 | 13,3 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 6 | 6 | 4,3 | 3 | 4,7 | 2 | 4,5 | 1 | 3,3 |
| <i>Moellerella</i> | 1 | 1 | 0,7 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| <i>Morganella</i> § | 10 | 9 | 6,5 | 5 | 7,8 | 2 | 4,5 | 2 | 6,6 |
| <i>Obesumbacterium</i> | 1 | 1 | 0,7 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| <i>Pantoea</i> | 5 | 5 | 2,8 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| <i>P. agglomerans</i> | 2 | 2 | 1,4 | 0 | 0,0 | 1 | 2,3 | 1 | 3,3 |
| spp | 3 | 3 | 2,2 | 2 | 3,1 | 1 | 2,3 | 0 | 0,0 |
| <i>Proteus</i> | 84 | 57 | 41,3 | 37 | 57,8 | 11 | 25,0 | 9 | 30,0 |
| <i>P. mirabilis</i> | 74 | 48 | 34,8 | 35 | 54,7 | 7 | 15,9 | 6 | 20,0 |
| spp | 10 | 9 | 6,5 | 2 | 3,1 | 4 | 9,1 | 3 | 10,0 |
| <i>Providencia</i> | 112 | 63 | 45,7 | 35 | 54,7 | 15 | 34,1 | 13 | 43,3 |
| <i>P. alcalifaciens</i> | 82 | 43 | 31,1 | 22 | 34,4 | 11 | 25,0 | 10 | 36,7 |
| spp | 30 | 20 | 14,5 | 13 | 20,3 | 4 | 9,1 | 3 | 10,0 |
| <i>Raoultella</i> | 16 | 12 | 8,7 | 3 | 4,7 | 6 | 13,6 | 3 | 10,0 |
| <i>R. ornithinolytica</i> | 15 | 11 | 7,8 | 3 | 4,7 | 5 | 11,4 | 3 | 10,0 |
| spp | 1 | 1 | 0,7 | 0 | 0,0 | 1 | 2,3 | 0 | 0,0 |
| <i>Salmonella</i> spp | 23 | 21 | 15,2 | 18 | 28,1 | 2 | 2,3 | 2 | 6,6 |
| <i>Serratia</i> | 4 | 3 | 2,2 | 1 | 1,6 | 1 | 2,3 | 1 | 3,3 |
| <i>Aeromonaceae</i> (10) | | | | | | | | | |
| <i>Aeromonas</i> | 10 | 6 | 4,3 | 3 | 4,7 | 0 | 0,0 | 3 | 10,0 |
| <i>Moraxellaceae</i> (11) | | | | | | | | | |
| <i>Acinetobacter</i> | 11 | 5 | 2,8 | 0 | 0,0 | 5 | 11,4 | 0 | 0,0 |
| <i>Pseudomonaceae</i> (8) | | | | | | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> | 8 | 7 | 5,1 | 3 | 4,7 | 2 | 4,5 | 2 | 6,6 |

* Dentro de cada género se indican las especies detectadas en al menos un 10 % de al menos un tipo de muestras o cuando todos los microorganismos restantes pertenecen a la misma especie

† Número de microorganismos, nótese que en todos los casos se reporta el total de cada tipo de microorganismos aislados de cada especie, pudiendo haber más de uno proveniente de la misma muestra

‡ Número de muestras en las que se aisló cada tipo de microorganismo, nótese que si en una muestra se aisló una misma especie de microorganismo varias veces la muestra sólo está considerada una vez

§ Todos identificados como *Morganella morganii*

|| Todos identificados como *Serratia marcescens*

spp: especie perteneciente al género señalado

spp. fue más frecuente en las muestras de pollo que en las muestras de carne de vacuno ($p < 0,05$); *Citrobacter* spp. fue más frecuentes en muestras de carne de vacuno que en muestras de pollo ($p < 0,05$) y *Enterobacter* spp. tendía a ser más frecuente en las muestras de cerdo que en las muestras de pollo.

DETECCIÓN DE *E. COLI* DIARREOGÉNICAS

Aunque se aislaron 407 *E. coli*, solo dos fueron clasificados como diarreogénicos (0,5 % de los aislados, 1,5 % de las muestras), concretamente un STEC (presencia del gen *stx*) y un EPEC (presencia del gen *eaeA*) aislados de las muestras de cerdo (3,3 %) y de las muestras de res (2,3 %), respectivamente.

NIVELES DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

Los niveles de sensibilidad a antimicrobianos se determinaron en 261 (64,1 %) de los aislados de *E. coli* (159 de pollo, 57 de vacuno y 45 de cerdo), que se obtuvieron de 56 muestras de pollo, 25 de vacuno y 22 de cerdo, respectivamente. A excepción de amoxicilina-ácido clavulánico ($p=0,337$), el resto de los antimicrobianos presentaron diferencias significativas en los porcentajes de resistencia según el tipo de muestra ($p < 0,05$).

En los aislados de *E. coli* de muestras de pollo, el 100 % fueron resistentes a cotrimoxazol, más del 90 % fueron resistentes a ampicilina y tetraciclina, más del 80 % fueron resistentes a quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacina) y cloranfenicol. En los antibióticos restantes, los niveles de resistencia fueron menores al 40 %, destacando la ausencia de resistencia a imipenem.

En los aislados de *E. coli* de muestras de cerdo, el 95 % fueron resistentes a ampicilina, el 90 % a tetraciclina, el 59,1 % a ácido nalidíxico y el 54,5 % a cloranfenicol y cotrimoxazol. Además, un número considerable de aislados presentó resistencia intermedia a las quinolonas (ácido nalidíxico y ciprofloxacina).

En los aislados de *E. coli* de muestras de vacuno, el 52 % fueron resistentes a tetraciclina, el 48 % a ciprofloxacina y el 44 % a ampicilina. Es importante destacar que el 98,2 % de *E. coli* de muestras de pollo fueron MDR. Los valores de *E. coli* MDR fueron menores en las muestras de cerdo (86,4%), y mucho menores en las muestras de vacuno (28 %) (Tabla 2).

PRESENCIA DE BLEE Y *pAmpC*

Se analizaron 89 cepas de *E. coli* de 32 muestras de pollo y 62 cepas de *E. coli* de 20 muestras de carne de res. Los resultados mostraron la presencia de *E. coli* productor de BLEE en 19/32 (59,4%) muestras de pollo, no se detectó la presencia de BLEE en las muestras de carne de vacuno. Mientras que *pAmpC* sólo estuvo presente en tres

muestras: 2/32 (6,2 %) en muestras de pollo y 1/20 (5,0 %) en muestras de vacuno.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, hemos encontrado una gran variedad de especies bacterianas, aunque no todos son patógenos, resalta la alta presencia de niveles de resistencia a los antibióticos. Un hallazgo preocupante es la presencia de *Salmonella* spp. en el 30 % de las muestras de pollo. La *Salmonella* es un patógeno peligroso que comúnmente se asocia con diarrea, fiebre y calambres abdominales⁽³⁾, puede transmitirse directa o indirectamente entre animales y humanos, principalmente a través de alimentos contaminados⁽³⁾.

En general, el microorganismo detectado con mayor frecuencia fue *E. coli*, microorganismo cosmopolita y hospedero habitual de la microbiota intestinal en mamíferos y otros animales⁽¹⁷⁾. Es importante mencionar el bajo número de *E. coli* diarreogénicas encontradas (0,5 %), sobre todo porque reportes anteriores, que analizaron muestras humanas mostraron su presencia en el 43 % de niños de áreas rurales de Perú⁽¹⁸⁾ y en el 30 % de niños con o sin diarrea de áreas periurbanas de Lima⁽¹⁹⁾. Asimismo, su presencia en muestras de origen animal también ha sido reportada, incluyendo Lima y otras regiones peruanas^(20,21). La presencia de microorganismos resistentes a los antimicrobianos en los alimentos humanos es un problema creciente en América Latina⁽²²⁾.

En nuestro estudio, observamos una variedad de aislados altamente resistentes a los antimicrobianos, con estimaciones de MDR de 80 %. Destaca la presencia de microorganismos productores de BLEE en muestras de pollo, y su no presencia en carne de vacuno. Aunque no se puede descartar la contaminación de *E. coli* productoras de BLEE en las muestras de pollo durante su manipulación en los mataderos o en el puesto de venta, esta amplia diferencia podría deberse primordialmente al uso de antibióticos en las granjas de pollos.

Aunque se sabe que el proceso de cocción del alimento eliminaría a las bacterias productoras de BLEE, se debe considerar la posible contaminación relacionada con la propia manipulación del producto, que facilitaría la propagación de estos microorganismos a las superficies, a alimentos no cocinados (por ejemplo, las ensaladas) y, posteriormente, al intestino humano⁽²³⁾.

La mayoría de los microorganismos presentes, no son patógenos y, por lo tanto, se pueden incorporar silenciosamente a la microbiota intestinal humana, ya sea de forma estable o inestable, actuando como portadores y/o reservorios de genes de resistencia a antimicrobianos. Estos podrían actuar como una especie de «caballo de Troya», pudiendo transferir estos genes a otros microorganismos residentes comensales o a microorganismos patógenos en infecciones que los hacen difíciles de tratar⁽²⁴⁾.

Tabla 2. Niveles de resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli* aislados en carne de los mercados tradicionales de Lima

| Antibióticos | Pollo (56) | | | | | | Vacuno (25) | | | | | | Cerdo (22) | | | | | | Valor de p ‡ |
|----------------------------------|------------|------|------|------------|-------|------|-------------|------|------|------------|------|------|------------|------|------|------------|------|------|--------------|
| | Intermedia | | | Resistente | | | Intermedia | | | Resistente | | | Intermedia | | | Resistente | | | |
| | n | %* | %O † | n | %* | %O † | n | %* | %O † | n | %* | %O † | n | %* | %O* | n | %* | %O † | |
| Ampicilina | 0 | 0 | 0,0 | 53 | 94,6 | 90,1 | 0 | 0,0 | 0,0 | 11 | 44,0 | 31,0 | 0 | 0,0 | 0,0 | 21 | 95,4 | 76,0 | <0,001 |
| Amoxicilina Ácido Clavulánico | 14 | 25,0 | 23,8 | 9 | 16,1 | 15,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 16,0 | 11,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | 1 | 4,5 | 3,6 | 0,377 |
| Azitromicina | 0 | 0,0 | 0,0 | 22 | 39,3 | 37,4 | 0 | 0,0 | 0,0 | 2 | 8,0 | 5,6 | 0 | 0,0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0,0 | 0,002 |
| Cloranfenicol | 1 | 1,8 | 1,7 | 46 | 82,1 | 78,3 | 1 | 4,0 | 2,8 | 1 | 4,0 | 2,8 | 0 | 0,0 | 0,0 | 12 | 54,5 | 43,6 | <0,001 |
| Ácido nalidixico | 3 | 5,4 | 5,1 | 50 | 89,3 | 85,1 | 7 | 28,0 | 19,7 | 4 | 16,0 | 11,3 | 4 | 18,2 | 14,5 | 13 | 59,1 | 47,3 | <0,001 |
| Ciprofloxacino | 7 | 12,5 | 11,9 | 47 | 83,9 | 80,0 | 12 | 48,0 | 33,8 | 0 | 0,0 | 0,0 | 10 | 45,5 | 36,4 | 8 | 36,4 | 29,1 | <0,001 |
| Furazolidona | 3 | 5,4 | 5,1 | 17 | 30,4 | 28,9 | 0 | 0,0 | 0,0 | 1 | 4,0 | 2,8 | 2 | 9,0 | 7,3 | 5 | 22,7 | 18,2 | 0,031 |
| Cotimoxazol | 0 | 0,0 | 0,0 | 56 | 100,0 | 95,3 | 2 | 8,0 | 5,6 | 3 | 12,0 | 8,4 | 0 | 0,0 | 0,0 | 12 | 54,5 | 43,6 | <0,001 |
| Tetraciclina | 0 | 0,0 | 0,0 | 53 | 94,6 | 90,1 | 1 | 4,0 | 2,8 | 13 | 52,0 | 36,6 | 0 | 0,0 | 0,0 | 20 | 90,9 | 72,7 | <0,001 |
| MDR § | 55 | 98,2 | 93,6 | - | - | - | 7 | 28,0 | 19,7 | - | - | - | 19 | 86,4 | 69,1 | - | - | - | <0,001 |
| PanS § | 0 | 0,0 | 0,0 | - | - | - | 4 | 16,0 | 11,3 | - | - | - | 1 | 4,5 | 3,6 | - | - | - | 0,008 |

MDR: multidrogresistente, PanS: pansensible

* porcentaje de muestras intermedias calculado sobre el número de muestras incluidas en presente análisis (%=n x 100 /n (muestra)

† porcentaje de muestras resistentes calculado sobre el total de muestras recolectadas (%O=% x factor de corrección)

Los factores de corrección utilizados para calcular cada %O son 0,953 (pollo), 0,704 (vacuno) y 0,80 (cerdo)

‡ Prueba de Chi Cuadrado o prueba de Fisher, según corresponda

§ Se refiere al total de la muestra

No se encontró resistencia a Imipenem

Los altos niveles de resistencia podrían explicarse por el uso indiscriminado de antibióticos, para el tratamiento y profilaxis (aminoglucósidos, cefalosporinas, betalactámicos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, fenicoles y sulfonamidas, principalmente) en animales de Perú (25), cuyo riesgo puede ser aún mayor cuando estos antibióticos se usan por más tiempo, como comúnmente sucede en la producción de animales (26). En Perú, los antibióticos más utilizados en veterinaria incluyen oxitetraciclina, penicilina y cotrimoxazol, según un estudio realizado en pequeñas granjas lecheras en las zonas rurales del norte del país (27). En nuestro estudio, los niveles de resistencia más altos se encontraron para ampicilina, amoxicilina, cotrimoxazol y tetraciclina, todos ellos usados en veterinaria (25,27). Algunos países de América Latina, incluido Perú, han implementado alternativas para controlar el uso de antibióticos, limitando el uso de cloranfenicol, olaquinox, nitroimidazoles y nitrofuranos en animales para consumo humano (28).

Para promover el uso responsable de los antibióticos, se han publicado directrices internacionales y nacionales con el propósito de garantizar la eficacia terapéutica y mitigar la resistencia antimicrobiana (29). En el presente estudio, los microorganismos de *E. coli* aislados de las muestras de pollo exhiben los mayores niveles de resistencia, este fenómeno ya ha sido descrito en otros estudios (30). Este hallazgo podría estar relacionado con el proceso industrial en la producción de carne de pollo, de gran importancia en Perú, por el alto consumo de sus pobladores.

La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) propone diferentes estrategias para reducir y controlar el uso de antibióticos en veterinaria, como

la promoción del veterinario con licencia, el control del manejo de la enfermedad y la prevención de antibióticos en animales productores de alimentos. Sin embargo, los resultados de nuestro estudio sugieren que estas medidas no serían suficientes. Los antibióticos probados en este estudio también se usan en humanos y la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que la mayoría de estos antibióticos son clasificados como «críticamente importantes» o «muy importantes» para su uso como tratamiento en humanos (31). Además, los mercados tradicionales también deben emplear buenas prácticas alimentarias e incluir el lavado y la desinfección, durante la preparación, el almacenamiento y el proceso de venta.

Como limitación del estudio se puede mencionar la selección del 64,1 % (261/407) de aislados de *E. coli* para la realización del antibiograma, de estas sólo se consideraron 89 aislados para la búsqueda de BLEE y pAmpC. A pesar de esta limitación, se considera que la muestra analizada es representativa del total de aislados, por haberse realizado una selección aleatoria de los microorganismos incluidos.

En Perú, es necesario promover investigaciones adicionales en microorganismos resistentes a los antimicrobianos en la interfaz humano-animal-ambiente para mostrar las rutas de transmisión de bacterias resistentes, así como los genes de resistencia circulantes y el impacto de las presiones selectivas en varios reservorios (animales, humanos y el entorno). Este conocimiento permitirá mejorar las estrategias y programas locales dirigidos a reducir la carga de resistencia a los antibióticos, así como, contribuir a los esfuerzos colectivos para salvaguardar los antibióticos

utilizados en humanos y luchar contra el creciente problema de salud pública que es la resistencia a los antibióticos.

En conclusión, este estudio presenta elevados niveles de resistencia a los antimicrobianos frecuentemente utilizados por humanos; además, se destaca que la carne de pollo y de vacuno pueden ser potenciales reservorios de *E. coli* productores de BLEE y pAmpC, respectivamente.

Agradecimientos: Agradecemos a todos los vendedores de carne de los mercados tradicionales de Lima que amablemente colaboraron en este estudio. Además, a los miembros del laboratorio de Enfermedades Entéricas del Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt.

Contribuciones de autoría: MJP, JR participaron en la concepción y diseño del artículo; LRR, SMM, CG, NP, MR, KO, DD, participaron en la recolección de resultados; MJP, JR participaron en análisis e interpretación de datos; MJP, JR, CG, TJO participaron en redacción del artículo; todos los autores realizaron la revisión crítica del artículo y aprobaron la versión final.

Fuentes de financiamiento: Este trabajo fue apoyado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2012 (Búsqueda de antibióticos y microorganismos resistentes en animales de consumo humano y piensos animales); JR fue apoyado por el programa I3 del Ministerio de Economía y Competitividad, España (número de concesión: CES11 / 012).

Conflictos de interés: Los autores no declaran conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Foley SL, Lynne AM. Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci*. 2008;86(14 Suppl):E173-87.
- World Health Organization. WHO list of Critically Important Antimicrobials for Human Medicine (WHO CIA list). Geneva: WHO; 2015. Available in: <http://who.int/foodsafety/publications/cia2017.pdf>
- Baylis C, Uyttendaele M, Joosten H, Davies A. The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. Brussels: International Life Sciences Institute (ILSI); 2011. Disponible en: <http://ils.iu.edu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/EP-Enterobacteriaceae.pdf>
- Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW 4th. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Adv Appl Microbiol*. 2014;86:145-97. doi: 10.1016/B978-0-12-800262-9.00003-2.
- Pons MJ, Mosquito S, Gomes C, Del Valle LJ, Ochoa TJ, Ruiz J. Analysis of quinolone-resistance in commensal and diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from infants in Lima, Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2014;108:22-8.
- Levy SB, FitzGerald GB, Macone AB. Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature*. 1976;260:40-2.
- Palma N, Pons MJ, Gomes C, Mateu J, Riveros M, García W *et al*. Resistance to quinolones, cephalosporins and macrolides in *Escherichia coli* causing bacteraemia in Peruvian children. *J Global Antimicrob Resist* 2017;11: 28-33.
- Rivera-Jacinto MA. Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp. aisladas de reservorios inanimados en un hospital del norte del Perú. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25:161-163.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard. Document M02-A10. tenth edition, Wayne, PA: CLSI.
- International Organization for standardization (ISO) [Internet]. Geneva: ISO 21567:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Shigella* spp. Available in: <https://www.iso.org/standard/34612.html>
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology, 9th edition. Washington, Dc: ASM Press; 2007.
- Barletta F, Mercado E, Lluque A, Ruiz J, Cleary T, Ochoa T. Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella*. *J Clin Microb* 2103; 51:2822-29.
- Walk ST, Alm EW, Gordon DM, Ram JL, Toranzos GA, Tiedje JM, *et al*. Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75:6534-44.
- Salazar de Vegas EZ, Nieves B, Araque M, Velasco E, Ruiz J, Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an Intensive Care Unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:397-403.
- Guion CE, Ochoa TJ, Walker CM, Barletta F, Cleary TG. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1752-7.
- Pons MJ, Gomes C, Martínez-Puchol S, Ruiz L, Mensa L, Vila J, *et al*. Antimicrobial resistance in *Shigella* spp. causing traveller's diarrhoea (1995-2010): a retrospective analysis. *Travel Med Infect Dis* 2013; 11:315-19.
- Egualde T, Gebreyes W, Asrat D, Alemayehu H, Gunn JS, Engidawork E. Non-typhoidal *Salmonella* serotypes, antimicrobial resistance and co-infection with parasites among patients with diarrhea and other gastrointestinal complaints in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infect Dis* 2015;15:497.
- Acosta GJ, Vigo NI, Durand D, Riveros M, Arango S, Zambruni M, *et al*. Diarrheagenic *Escherichia coli*: Prevalence and Pathotype Distribution in Children from Peruvian Rural Communities. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 7:574-9.
- Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil *et al*. High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* in infants in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2009;81:296-301.
- Caballero M, Rivera I, Jara LM, Ulloa-Stanojlovic FM, Shiva C. I Isolation and molecular identification of potentially pathogenic *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in feral pigeons from an urban area in the city of Lima, Peru. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2015; 57:393-6.
- Rivera FP, Sotelo E, Morales I, Menacho F, Medina AM, Evaristo R, *et al*. Short communication: Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle and pigs in Lima, Peru. *J Dairy Sci* 2012;95:1166-9.

22. Gómez-Aldapa CA, Segovia-Cruz JA, Cerna-Cortes JF, Rangel-Vargas E, Salas-Rangel LP, Gutiérrez-Alcántara EJ, et al. Prevalence and behavior of multidrug-resistant shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enterotoxigenic *E. coli* on coriander. *Food Microbiol* 2016;59:97-103.
23. Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(6):873-80.
24. Bidet P, Burghoffer B, Gautier V, Brahimi N, Mariani-Kurkdjian P, El-Ghoneimi A et al. In vivo transfer of plasmid-encoded ACC-1 AmpC from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* in an infant and selection of impermeability to imipenem in *K. pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3562-3565.
25. Ministerio de Salud. Norma sanitaria que establece los límites máximos de residuos (l_{mr}) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano [Internet]. Lima: MINSA; 2012. Disponible en: ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2012/RM739_2012_MINSA.pdf
26. De Briyne N, Atkinson J, Borriello SP, Pokludová L. Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Veterinary Record* 2014; 175: 325.
27. Redding LE, Cubas-Delgado F, Sammel MD, Smith G, Galligan DT, Levy MZ, et al. The use of antibiotics on small dairy farms in rural Peru. *Vet Med* 2014;113:88-95.
28. Quesada A, Reginatto GA, Ruiz Español A, Colantonio LD, Burrone MS. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2016;33:32-44.
29. Bentsson B, Greko C. Antibiotic resistance—consequences for animal health, welfare, and food production. *Ups J Med Sci* 2014;119:96-102.
30. Messele YE, Abdi RD, Yalew ST, Tegegne DT, Emeru BA, Werid GM. Molecular determination of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw meat in Addis Ababa and Bishoftu, Ethiopia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2017;16:55.
31. World Health Organization, World Health Day: Food Safety [Internet]. Geneva: World Health Organization Publishing; 2015. Available in: <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2015/event/en/>

Correspondencia: Maria J. Pons, PhD
 Dirección: Laboratorio de Microbiología Molecular y Genómica Bacteriana. Universidad Científica del Sur, Antigua Panamericana Sur, Km19 Lima, Peru.
 Teléfono: (+51)930491968
 Correo electrónico: ma.pons.cas@gmail.com



**REVISTA PERUANA DE MEDICINA
EXPERIMENTAL Y SALUD PÚBLICA**

Ahora nuestra revista incluye:

- ✓ Publicación anticipada
- ✓ Compartiendo publicaciones científicas con el ciudadano
- ✓ Videos de presentaciones conjuntas del Instituto Nacional de Salud y la Academia Nacional de Medicina
- ✓ Galería fotográfica y videos

 <https://rpmesp.ins.gob.pe>



MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Salud

Síguenos en:

