



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA

UNAN - MANAGUA

**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD**  
**“Dr. Luis Felipe Moncada”**  
**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**  
**Licenciado (a) en Microbiología**  
**TEMA.**

Determinación de *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua en el período de marzo - abril 2020.

**AUTORES:**

**Br.** Bianka Lizeth Palacios López.

**Br.** Flor de Liz Vega Mayorga.

**Br.** Danna Dayamith Pulido Largaespada.

**TUTORES:**

Ing. Benita Magaly Jiménez  
Especialista en laboratorio de salud  
Departamento de microbiología de alimentos CNDR.

MSc. Francisco Enrique Romero Oviedo  
Docente POLISAL-UNAN-MANAGUA

**ASESOR METODOLOGICO:**

MSc. Oscar Arbizú Medina.  
Docente POLISAL-UNAN-MANAGUA

**Managua, 11 de diciembre de 2020.**

## GLOSARIO

### A:

Abscesos: cavidad donde se acumula pus.  
· 11

Aclorhidria: estado clínico en el que la producción del ácido gástrico del estómago es inexistente o baja, respectivamente. · 10

Anaerobios: Que es capaz de vivir o desarrollarse en un medio sin oxígeno. · 10

Antibiograma: prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos.  
· 38

Antibioterapia: terapia realizada por medio de fármacos. · 11

Antibióticos: Que destruye los microorganismos que producen enfermedades e infecciones. · 18

Antisuero: Suero que contiene anticuerpos (inmunoglobulinas) específicos frente a un determinado antígeno o a varios. · 35

Artritis: hinchazón y la sensibilidad de una o más de las articulaciones. · 11

### B:

Bacilos: bacteria de forma cilíndrica alargada. · 10

Bacterias: organismo microscópico unicelular, carente de núcleo, que se multiplica por división celular sencilla o por esporas. · 7

Bactericidas: que destruye las bacterias. · 19

Bacteriostático: es aquel que, aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción · 19

BLEE: betalactamasas de espectro extendido · 37

Brote: aparición repentina de una enfermedad debida a una infección en un lugar específico y en un momento determinado. · 6

### C:

Catalasa: enzima que podemos observar sobre todo en organismos aeróbicos · 10

Cepas: grupo de microorganismos, como bacterias o virus, que pertenecen a la misma especie y comparten ciertas características que no se encuentran en otros miembros de la especie. · 40

Coliformes: grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. · 13

Colonia: agrupación de un conjunto de microorganismos de un mismo tipo · 26

### **D:**

Desaminan: eliminación de un grupo amino de una molécula. · 15

Descarboxilan: es una reacción química en la cual un grupo carboxilo es eliminado de un compuesto en forma de dióxido de carbono · 15

### **E:**

Enzimas: proteína soluble producida por las células del organismo, que favorece y regula las reacciones químicas en los seres vivos. · 16

Esporas: célula vegetal reproductora que no necesita ser fecundada. · 10

### **F:**

Facultativos: que puede desarrollarse o funcionar, pero no es obligatorio. · 10

Fagocitos: célula libre, presente en la sangre y otros líquidos orgánicos de los

seres pluricelulares, que tiene la propiedad de capturar y digerir partículas (especialmente microbios) mediante el proceso de la fagocitosis. · 11

Fermentación: proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento. · 15

Flagelos: filamento contráctil fino y alargado a modo de cola presente en muchas procariotas y en ciertas células eucariotas, que les sirve para desplazarse en un medio líquido y para otras funciones. · 10

Fluoróforo: componente de una molécula que hace que ésta sea fluorescente. · 18

### **G:**

Gastrectomía: cirugía para extirpar todo o parte del estómago. · 10

Gastroenteritis: inflamación de la membrana interna del intestino causada por un virus, una bacteria o parásitos. · 2

### **I:**

Indol: compuesto orgánico heterocíclico, con estructura bicíclica. · 16

Inocuidad: incapacidad para hacer daño · 2

Inóculo: suspensión de microorganismos que se transfieren a un ser vivo o a un medio de cultivo a través de la inoculación. · 10

**L:**

Lotes: conjunto de cosas que tienen características comunes y que se agrupan con un fin determinado. · 20

**M:**

Macrófagos: célula de gran tamaño que tiene capacidad de fagocitar partículas grandes y que se encarga de destruir los antígenos (y las células que los transportan) y de presentarlos a los linfocitos encargados de iniciar el proceso inmunológico. · 11

Mucosa: membrana del organismo que elabora una sustancia densa y pegajosa para proteger un órgano o una parte del cuerpo. · 11

**N:**

Nitritos: sal formada por combinación del ácido nitroso y una base · 10

**O:**

Ornitina: aminoácido dibásico, sintetizado en el citosol como producto del glutamato. · 16

**P:**

Patógeno: que causa o produce enfermedad. · 2

PCR-Tiempo real: es una variante de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación de ácido desoxirribonucleico (ADN). · 1

Ph: coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa. · 10

**R:**

Resistencia antimicrobiana: la resistencia a los antimicrobianos (o farmacorresistencia) se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces. · 1

Reticuloendotelial: parte del sistema inmunitario consistente en fagocitos localizados en el tejido conectivo reticular · 11

**S:**

Salmonelosis: enfermedad bacteriana frecuente que afecta el aparato intestinal. · 1

Sensidiscos: son pequeños discos de papel impregnados con concentraciones conocidas de la sustancia a probar · 37

Septicemia: es la presencia de bacterias en la sangre (bacteriemia) que a menudo ocurre con infecciones graves. Esta afección, también conocida como sepsis, es una infección grave y potencialmente mortal que empeora de forma muy rápida. · 11

#### **T:**

Toxiinfecciones: enfermedad provocada por un alimento contaminado debido a las toxinas que fabrican ciertos microorganismos. · 11

Toxinas: sustancia tóxica producida en el cuerpo de los seres vivos por la acción de los microorganismos. · 7

#### **U:**

UFC: unidad formadora de colonias · 25

#### **V:**

Vagotomía: cirugía para cortar las partes del nervio vago que hacen que el estómago elabore ácido gástrico. · 10

Virulencia: grado de la capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad. · 10

#### **Z:**

Zoonosis: se dice de cualquier enfermedad propia de los animales que incidentalmente puede comunicarse a las personas. · 2

## ÍNDICE.

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. ANTECEDENTES.....	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
IV. JUSTIFICACIÓN.....	8
V. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	9
VI. MARCO TEORICO.....	10
6.1. Generalidades.....	10
6.1.1. Características de <i>Salmonella spp.</i> .....	10
6.1.2. Fisiológica y estructural.....	10
6.2. Patogenia.....	10
6.3. Manifestaciones clínicas.....	11
6.4. Prevención.....	12
6.5. Métodos para la detección de <i>Salmonella spp.</i> .....	12
6.5.1. Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo.....	13
6.5.2. Enriquecimiento en medio de cultivo selectivo.....	13
6.5.3. Aislamiento diferencial sobre medios selectivos.....	13
6.5.4. Medio de cultivo diferencial.....	15
6.5.5. Métodos de Detección Molecular.....	18
6.5.6. Serología y Prueba Oxidasa.....	20
6.5.7. Sensibilidad a los antimicrobianos.....	20
VII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	23
7.1. Área de estudio.....	23
7.2. Tipo de estudio.....	23
7.3. Universo.....	23
7.4. Muestra.....	23
7.5. Muestreo.....	23
7.6. Tipo de muestreo.....	24
7.7. Criterios de inclusión.....	24
7.8. Criterios de exclusión.....	24
7.9. Limitaciones del estudio.....	24
7.10. Métodos e instrumentos para la recolección de la información.....	24
7.11. Procesamiento y análisis de las muestras.....	25

7.12.	Plan de tabulación y análisis. ....	32
7.13.	Consideraciones éticas. ....	32
VIII.	Operacionalización de las variables.....	33
IX.	Análisis y discusión de resultados.....	36
	<b>Gráfico 1: Determinación de <i>Salmonella spp</i>, mediante q-PCR a partir del caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), según cadena de los supermercados.....</b>	<b>36</b>
	<b>Gráfico N°2. Aislamiento de <i>Salmonella spp</i>, en carne molida de res expendida en las diferentes cadenas de supermercados de Managua, mediante el método convencional BAM-FDA.....</b>	<b>38</b>
	<b>Gráfico N°3: Identificación de <i>Salmonella spp</i>, por tipo de carne .....</b>	<b>39</b>
	<b>Grafico N°4. Perfil de resistencia de las 4 cepas de <i>Salmonella spp</i>, mediante el método de Kirby Bauer .....</b>	<b>41</b>
	.....	41
X.	Conclusiones. ....	44
XI.	Recomendaciones. ....	45
XII.	REFERENCIAS .....	46
XIII.	ANEXOS .....	49

## **AGRADECIMIENTOS.**

A **Dios**, por habernos guardado en todo este transcurso de nuestras vidas, habernos dado la convicción, inteligencia y perseverancia para poder terminar con nuestros estudios.

A la **Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – Managua** por habernos acogido en su alma máter y de esta manera formarnos como Microbiólogas.

A nuestros **Docentes y tutores**, por toda la enseñanza brindada a lo largo de los años. A nuestro tutor MSc. Francisco Enrique Romero Oviedo e Ing. Benita Magaly Jiménez por su valioso apoyo en la realización de esta investigación, así mismo al MSc. Oscar Arbizú Medina gracias por su apoyo.

Al **Ministerio de Salud**, con mención especial al departamento de **Regulación de Alimentos**, por facilitar todos los materiales y equipos que se utilizaron para la realización de esta investigación, así como también, colaborarnos en la recolección de las muestras en estudio.

Al personal del **Centro Nacional de diagnóstico y Referencia** del área de **Aguas y Alimentos y Bacteriología**, por habernos acompañado y apoyado con paciencia y dedicación durante todo el procesamiento de las muestras en esta investigación.

A **Nuestras familias** que han sido pieza fundamental en toda nuestra formación académica, dándonos todo su apoyo y amor para ver materializadas nuestras aspiraciones y sueños.

## **DEDICATORIA.**

*Todos mis triunfos a lo largo de mi vida y de mi carrera se lo debo a Dios, es el único que me ha dado oportunidades y ha abierto muchas puertas en toda esta trayectoria, me ha dado la fuerza, la sabiduría, la paciencia, salud por sobre todas las cosas, estoy más que agradecida con ese ser supremo, infinitas gracias por hacer posible una de mis mayores metas.*

*A mis padres, por todo el apoyo que me han dado, por estar conmigo en los momentos más difíciles y alentarme a seguir adelante, por enseñarme buenos valores que hasta el día de hoy me han llevado lejos y me han formado como lo que soy, por ser el motivo de esforzarme más y demostrarles que por ellos estoy aquí, al final de mi carrera, quiero ser su mayor orgullo.*

*A mi familia en general, porque de alguna u otra forma me ayudaron, son aquella voz que te gritan a lo lejos: “ánimo tú puedes”.*

*A los profesores que me ayudaron de una u otra forma, por ser los guías principales en estos 5 años de mi carrera, por su paciencia, por sus consejos, por sus palabras de ánimo, por sus regaños y por cada cosa que nos formó como profesionales.*

*A aquellos amigos que están a lo lejos, siempre deseando que logren cumplir sus metas.*

**Bianka Palacios López.**

## **DEDICATORIA.**

*Primeramente, doy gracias a Dios y a la Virgen Santísima por haberme permitido culminar mis estudios y siempre ser los guías en mi vida a pesar de las diferentes dificultades que surgieron en el camino, gracias por la salud, bienestar, fortaleza, paciencia, aprendizaje que sin estas cosas importantes no hubiese sido posible la realización de mis estudios*

*A mi mamá: **María Fátima Largaespada Castillo**, gracias por todo lo que me has dado en vida, gracias por ser mi amiga, mi confidente, mi luz, mi fuerza y mi motor a seguir, sin todo tu apoyo y esfuerzo que me brindas cada día todo esto no fuese posible, gracias por levantarme y animarme a seguir en este duro camino lleno de espinas, todo esto es gracias a ti, sin tu perseverancia y fortaleza en parte no lo hubiese logrado, eres mi mayor ejemplo y admiración a seguir en la vida.*

*A mi Padre: **Oswaldo Noel Pulido Amuero**, gracias por todo el sacrificio de sacarme adelante, por todo lo que me has dado en la vida, en los estudios, sin ti también este título no fuese posible, eres el máximo ejemplo a seguir, tanto profesional como en persona. Gracias a mi hermana **Yanara Milena Pulido** que siempre has creído y me has apoyado, a pesar que soy la mayor, la admiración y ejemplo es parte mía hacia ti.*

*Gracias de una u otra forma a todos aquellos **familiares** que a lo largo de la vida y el tiempo universitario han estado ahí para mi brindándome su apoyo, carisma, su confianza que han depositado en mí.*

***Para mi familia**, este título va más para ustedes que para mí, Gracias por todo.*

**Danna Pulido Largaespada.**

## **DEDICATORIA.**

*Dedico esta monografía a mi **Padre celestial**, ya que él me ha dado la gran bendición de poder culminar mi carrera, me ha dado vida, salud, fortaleza y me ha provisto de todo lo necesario para poder continuar día a día construyendo mis sueños. Marcos 9:23...Si puedes creer, al que  **Cree todo** le es  **posible**.*

*A **mi madre**, porque ha sido la persona que se ha sacrificado para sacarnos adelante a mí y mis hermanas, por haberme formado como la persona que soy en la actualidad, inculcándome valores para ser una buena ciudadana, siempre me tuviste en tu mente y corazón y eso lo demostrabas de muchas maneras, incluso, al levantarte de madrugada para que llevara almuerzo.*

*A **mi padre**, por su esfuerzo en proveerme lo necesario en estos años de curso universitario.*

*A **mis hermanas: Alina** por haberme motivado a luchar hasta alcanzar lo que deseo y **Xilgia** por haber hecho sacrificios para apoyarme económicamente en mi formación profesional.*

*A una persona muy especial, **Yuri Velásquez**, por alentarme a seguir esforzándome en este camino difícil, por haberme brindado su apoyo cuantas veces lo necesité y tomarse el tiempo en aconsejarme aun cuando no los pedía.*

*A **mis docentes y tutores**, por compartirme sus conocimientos y tener la paciencia que la enseñanza requiere.*

*A **mis compañeros de clase**, por convivir estos años en los cuales pasamos momentos de risa, estrés, llanto, desacuerdos, pero sobre todo por brindarnos el apoyo que como futuros colegas necesitamos para ser parte de una misma misión.*

**Flor de Liz Vega Mayorga.**

## RESUMEN.

Se realizó un estudio epidemiológico, de tipo descriptivo y corte transversal, con las diferentes cadenas de supermercados de Managua, el objetivo principal es determinar *Salmonella spp*, en carne molida de res en un periodo comprendido entre marzo - abril 2020. El estudio cuenta con un universo de 46 supermercados distribuidos en 5 cadenas (A, B, C, D, E), donde se seleccionaron 10 supermercados aleatoriamente, la muestra estuvo compuestas por 2 lotes (1 lote de carne económica y un lote de carne súper) 50 submuestras de carne económica y 50 submuestras de carne súper, equivalente a un total de 100 muestras. En los resultados obtenidos, tanto en el método convencional, como en el PCR- tiempo real, se encontró un 4%, de muestras positivas con cepas de *Salmonella spp*, demostrando que ambos métodos son efectivos para su identificación. Se les realizó el perfil de resistencia antimicrobiana, resultando con resistencia al grupo de  $\beta$ -lactámicos, Penicilinas, Cefalosporinas y Monobactames, resultando Ciprofloxacina con valores de corte intermedios reportándose de esta forma el mecanismo de resistencia: BLEE positivo. Concluyendo que el 4% que se encontró contaminado representa un grave peligro hacia la salud de los consumidores, recomendándose de esta forma **al instituto politécnico de la salud “Dr. Luis Felipe Moncada” (POLISAL) de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**, instituto que promueve la investigación, que pueda proporcionar éste y otros estudios con la finalidad de dar seguimiento y ampliar el estudio, donde se determine el serotipo específico de las cepas de *Salmonella*, encontradas y se busquen los genes de resistencia, ya sea con fines epidemiológicos o educativos, esto en coordinación con la dirección de regulación de alimentos, para monitorear la presencia de *Salmonella*, en carne molida de res, no solo de los supermercados; sino también, de los mercados municipales, estando así al tanto del comportamiento de los mismos y evitar posibles multiresistencia que pueda presentar en el futuro ésta bacteria, garantizando la seguridad alimentaria de los consumidores. de igual forma se recomienda la vigilancia del uso de antibióticos durante la crianza del animal, regulado por el Ministerio Agropecuario.

## I. INTRODUCCIÓN.

Las intoxicaciones alimentarias causadas por *Salmonella spp*, son de mayor prevalencia en los países desarrollados y es una de las principales causas de gastroenteritis en el ser humano. Se estima que afecta anualmente a millones de personas de todo el mundo y provoca más de cien mil defunciones (Marcillo, Murillo, Ortiz, & Parrales, 2019). La transmisión de *Salmonella spp*, de persona a persona es poco frecuente, por lo que se considera que los alimentos en especial la carne de ave, bovino y sus derivados, son la principal fuente de contaminación humana, se estima que el 95% de las infecciones están asociada a la ingesta de alimentos contaminados con *Salmonella spp*, (Organizacion Mundial de la Salud, 2020). Diversas revistas de otros países, reportan nuevas publicaciones con un aumento de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp*, proveniente de alimentos de origen animal (Quesada, Reginatto, Ruiz, Colantonio, & Burrone, 2016) lo que hace necesario un manejo preciso sobre el uso racional de antibióticos y mantener la vigilancia activa sobre posibles apariciones de cepas multiresistentes, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua, a fin de conocer si ésta es apta para el consumo humano; de la misma manera, se tomen medidas preventivas y correctivas, que vayan en pro de la salud del consumidor.

## II. ANTECEDENTES.

Yáñez et al. (2011). Realizaron un estudio en canales de bovinos y en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba, donde se aisló *Salmonella spp*, en 16.1% de las muestras obteniendo un 68% de casos positivos con la q-PCR y 48% con el método convencional, los alimentos expedidos de la vía pública que presentaron mayor contaminación por *Salmonella spp*, fueron: chorizos, con 28,1% por q-PCR y 12,3% por el método convencional; quesos, con 18,4% por q-PCR y 5,3% por el método convencional; cerdo, con 23,1% por q-PCR y 15,4% por el método convencional, y carne molida, con 9,3% por q-PCR y 15,6% por el método convencional.

Urrutia y Guevara (2012). Realizaron una investigación en Detección de *Salmonella spp*, resistente a antibióticos en carne molida de res distribuidas en los supermercados en la zona 2 del Distrito 2 del área metropolitana de San Salvador; a partir de 20 muestras de carne molida de res de las especialidades (Especial, Súper Especial, Premium, Extrafina), se recolectaron 10 muestras en la primera semana y 10 en la segunda semana, realizando un análisis para detectar *Salmonella spp*, teniendo un resultado positivo, donde posteriormente se le realizó pruebas de susceptibilidad a los antibióticos (penicilina, cloranfenicol, Ciprofloxacina, gentamicina y tetraciclina) por el método de difusión Kirby Bauer para determinar la multiresistencia. Llegando a la conclusión que de las 20 muestras analizadas 55% se les detectó *Salmonella spp*, y de estas el 100% fue resistente a penicilina 10 µg, 100% fue sensible a gentamicina 10 µg y Ciprofloxacina 5 µg, 45.45% presentó resistencia a tetraciclina 30 µg, 9.1% presentó sensibilidad intermedia a tetraciclina 30 µg y 45.45% fue sensible a tetraciclina 30 µg, 9.1% fue resistente a cloranfenicol 30 µg, (9.1%) presentó sensibilidad intermedia y 81.81% fue sensible a este último.

Mercola (2013). Realizó una publicación para el sitio web Mercola, informando que, en los Estados Unidos, las autoridades federales de salud recientemente reportaron que al menos 16 personas en cinco estados se habían enfermado por comer carne molida contaminada con *Salmonella*, cerca de la mitad de estas personas tuvieron que ser hospitalizadas, pero ninguna ha muerto hasta ahora. Siete de las personas afectadas comieron Kibbeh- un platillo de carne molida cruda- en un restaurante sin nombre en Detroit. La contaminación está dispersa alrededor de un área muy grande: Michigan, Arizona, Illinois, Iowa y Wisconsin. De acuerdo

con los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), el brote está relacionado con el reciente retiro de más de 1,000 libras de carne molida de Gab Halal Foods y Jouni Meat, ambas con sede en Michigan.

Cabrera et al. (2013). Realizaron un estudio preliminar para investigar *Salmonella spp.*, y *E. coli* 0157:H7 en carne molida de res, de venta en supermercados en la ciudad de Puebla, México realizado en la Universidad Autónoma de Tamaulipas Ciudad Victoria, México; publicado por la red de revistas científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal; se concluyó que en muestras de 25 gramos no se encontró la presencia de *Salmonella sp.*, ni de *E. coli* 0157:H7; sin embargo, se detectaron otras Enterobacterias como *Proteus sp.*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, y *E. coli.* no 0157:H7. Por lo que, sus recomendaciones fueron que la carne tenga un buen proceso de cocción antes de ser consumida, además, es conveniente que se realicen estudios continuos que estén dirigidos a la identificación de estas bacterias o de otros microorganismos, mediante el uso de técnicas molecular.

Estrada y Guillén (2015). Elaboraron el estudio monográfico que tiene como tema: Identificación del patógeno *Salmonella spp.*, en carne molida de res comercializada en el mercado central de Chinandega-Nicaragua, en el período de octubre-noviembre 2015, la cual tiene por objetivo general: Determinar la presencia de *Salmonella spp.* Donde se muestrearon 48 tramos en total, llegó a la conclusión que se encontró *Salmonella spp.* En el 20% de los comercios, correspondiendo a 10 tramos; demostrando de esta manera que la carne molida que se comercializa en el mercado central de Chinandega tiene serios problemas de inocuidad en cuanto a la elaboración y manejo del producto.

Romero et al. (2015). Realizaron la tesis monográfica cuyo tema es: “Análisis de la comparación del método estándar ISO 6579-2002 con PCR Tiempo Real como prueba de Tamizaje para la detección de *Salmonella spp.*, en carne molida, CNDR MINSA, noviembre diciembre 2014.” se estudiaron 25 muestras de carne molida las cuales resultaron 100% positivas por los dos métodos utilizados. Llegando a la conclusión que ambos métodos son una excelente alternativa para realizar pruebas de tamizaje para la detección de *Salmonella spp.*, en productos cárnicos.

Ballesteros et al. (2016). Realizaron un estudio que tiene como tema: “perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella spp*, aislados en carne de res molida en la ciudad de México, detectando los serotipos *Lomita*, *Derby*, *Senftenberg*, *Javiana* y *Cannstatt*, se observó alta resistencia a ampicilina, Carbenicilina, Tetraciclina y Trimetropim-Sulfametoxazol, donde cinco cepas no fueron tipificadas y 14 mostraron multiresistencia. Concluyendo que la carne de res que se vende en el principal centro de consumo del país está contaminada con serotipos de *Salmonella spp*, relevantes para la salud pública.

Castañeda (2017). Realizó un estudio en la Universidad Nacional Autónoma de México titulada: Diagnóstico de *Salmonella Typhimurium*, en carne molida utilizando dos pruebas rápidas y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se concluyó que, de cinco muestras de carne inoculadas con *Salmonella*, todas las muestras dieron resultado positivo a *Salmonella*, al aplicarse la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Obteniendo un 100% de especificidad y 100% de sensibilidad.

En el 2018. Una institución de los Estados Unidos que inspecciona los alimentos ha publicado un artículo por el FSIS (Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos) informando que se han retirado productos de carne de res cruda por una posible contaminación por *Salmonella newport*, de la distribuidora cárnica JBS Tolleson Inc. Los productos de carne cruda no intacta, entre ellos la carne molida, se empacaron en varias fechas desde el 26 de julio de 2018 hasta el 7 de septiembre de 2018. A raíz del mismo, el FSIS pudo comenzar el rastreo de los productos de carne molida. Hasta la fecha, ocho pacientes han proporcionado recibos o números de tarjetas de compras, que han permitido las investigaciones de rastreo del producto. El FSIS, los Centros para el Control de enfermedades y prevención, y Salud pública del estado de Arizona, y socios del ramo de la agricultura determinan que la carne molida de res cruda fue la fuente probable de las enfermedades informadas.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

#### **Caracterización del problema.**

La Salmonelosis, es una de las enfermedades con mayor frecuencia en los reportes de brote relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial, se estima que entre el 15% y 20% de dichas enfermedades, están directamente asociadas al consumo de carne de pollo, carne molida de res, carne de cerdo, representando un alto índice de contaminación cruzada para las personas, (Molina, 2010).

#### **Delimitación del problema.**

Salmonelosis causada por *Salmonella spp*, es una de las grandes afectaciones alimentarias que sufren las personas hoy en día, esto es por el acelerado ritmo de vida que nos lleva al consumo de comida rápida, entre otros tipos de alimentos que contengan carne molida o sus derivados, en donde no se controla de manera eficiente las practicas higiénicas necesarias, también, es importante su estudio porque representa el segundo alimento de mayor consumo por la población, por lo tanto, es necesario mostrar si hay presencia de *Salmonella spp*, en este tipo de producto, de la misma forma destacar el grado de resistencia antimicrobiana que puede presentar la bacteria una vez aislada, se tomará como referencia los supermercados de Managua, en donde, se obtendrán dichas muestras.

#### **Formulación del problema**

Por la temática antes planteada surge la siguiente interrogante:

¿Cuántas muestras de carne molida de res, expandida en los supermercados de Managua en el periodo comprendido de Marzo - Abril 2020, están contaminadas con la bacteria de *Salmonella spp*, y representan un riesgo a la salud de los consumidores?

## Sistematización del problema

¿Qué cantidad de muestras de carne molida de res expendida en los supermercados de Managua se encuentra contaminada de *Salmonella spp*, mediante q-PCR?

¿Se logrará aislar mediante pruebas convencionales, *Salmonella spp*, en carne molida de res que se expende en los supermercados de Managua?

¿Cuál es el perfil de resistencia de *Salmonella spp*, aislada en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua?

#### IV. JUSTIFICACIÓN.

Las enfermedades transmitidas por alimentos ( ETAS) constituyen un importante problema de salud a nivel mundial, debido a la ingesta de alimentos contaminados por bacterias o toxinas en cualquier etapa del proceso de transformación de los alimentos, cabe destacar que *Salmonella spp*, es una de las principales causantes de diarrea por contaminación alimentaria (Organización Mundial de la Salud, 2020), por lo tanto el estudio de *Salmonella spp*, es de gran importancia, principalmente en los supermercados donde su comercialización es muy cotizada, desconociéndose las medidas higiénicas sanitarias que se implementan, representando un riesgo para la salud del consumidor.

La carne molida de res al ser un producto, donde el proceso de elaboración y distribución exige un control de medidas higiénicas muy estricto, con facilidad se puede dar el desarrollo de microorganismos patógenos que pueden afectar directamente la salud de los consumidores. El desarrollo de este estudio servirá para alentar a las instituciones correspondientes, a tomar iniciativas que establezcan medidas de carácter riguroso en cuanto al manejo de este producto perecedero. Así como implementar vigilancia sobre el uso de los antibióticos tanto a las industrias ganaderas, como en la antibioterapia en personas enfermas, ya que el manejo irracional es el principal causante de aparición de microorganismos multiresistentes. Consecuentemente proteger la salud del consumidor.

## V. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

### Objetivo general.

Determinar la presencia de *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua en el periodo comprendido de marzo - abril 2020.

### Objetivos específicos.

1. Detectar la presencia de *Salmonella spp*, mediante la q-PCR en tiempo real, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua.
2. Aislar *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua mediante pruebas convencionales.
3. Analizar el perfil de resistencia de *Salmonella spp*, aislada en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua.

## VI. MARCO TEORICO.

### 6.1. Generalidades.

#### 6.1.1. Características de *Salmonella spp.*

#### 6.1.2. Fisiológica y estructural.

El género *Salmonella*, pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Los microorganismos que lo componen son bacilos Gram negativos. Miden de 0,7- 1,5 x 2-5  $\mu\text{m}$ , son anaerobios facultativos, no formadores de esporas y generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *Salmonella gallinarum* y *Salmonella pullorum*). Las *Salmonellas*, fermentan maltosa, manitol y glucosa; produciendo gas, excepto *Salmonella typhi*, que nunca lo produce. No fermentan lactosa ni sacarosa. Son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos (Garcia & Mateo, 2010).

*Salmonella*, crecen en un amplio rango de temperatura 7° - 49° C, crece a un pH que varía entre 4 - 9, la tolerancia al ácido depende del tipo y tamaño del ácido al cual se expone el microorganismo, por factores como la temperatura y sustancias como los nitritos. El crecimiento bajo atmósferas de nitrógeno es ligeramente menor a las condiciones aeróbicas. Puede crecer de 8 - 11 °C con concentraciones de 20 - 50% de CO<sub>2</sub> , su crecimiento se ve retardado cuando hay un 80% de CO<sub>2</sub> en el aire. *Salmonella*, puede multiplicarse en actividades de agua (aw) que van desde 0.94 hasta 0.995 (Carrascal, Catañeda, & Pulido, 2011).

### 6.2. Patogenia.

Una vez que la persona ingiere *Salmonella*, el desarrollo de la enfermedad va a depender fundamentalmente de la cantidad de microorganismos ingeridos (inóculo), de su virulencia y de factores dependientes del huésped. Las cepas Vi negativas son menos infecciosas y virulentas que las cepas Vi positivas. La dosis infectiva para las personas sanas se encuentra entre 10<sup>7</sup> y 10<sup>9</sup> células. En una toxiinfección provocada por un helado contaminado con un número pequeño de *Salmonella enteritidis*, pero distribuida homogéneamente en el producto, la dosis infectiva causante de la enfermedad sintomática fue solo de 25 células, en el caso de los individuos susceptibles se puede provocar la enfermedad con solo 10 células de la cepa

apropiada de *Salmonella*, en alimentos ricos en grasa y azúcares, la dosis infectiva puede ser de  $10^4$  (Quílez, 2002).

La acidez gástrica es una barrera natural importante, siendo factores predisponentes aquellas circunstancias que modifican el pH gástrico, como aclorhidria, vagotomía, gastrectomía o la toma de fármacos que lo modifican, Una vez superada la barrera gástrica, *Salmonella*, pasan al intestino delgado, donde encuentran un medio más idóneo, más aún si hay una alteración de la flora intestinal normal por el uso previo de antibioterapia. Se adhieren a receptores específicos de las vellosidades intestinales, atraviesan la mucosa, alcanzan los linfáticos de las placas de Peyer donde se multiplican, pasando a la sangre donde son atrapadas por fagocitos y macrófagos del sistema reticuloendotelial, acumulándose en los órganos ricos en él como son hígado, el bazo y la médula ósea. Finalmente vuelven a pasar al intestino y a la vesícula biliar (Jimenez, Muñoz, Delgado, Rivero, & Torre, 2010).

### **6.3. Manifestaciones clínicas.**

La infección por *Salmonella*, no tifoidea produce una gastroenteritis indistinguible de la producida por otros patógenos gastrointestinales, siendo la responsable de aproximadamente el 50% de los casos de toxiinfecciones alimentarias la enfermedad por lo general dura de 4 a 7 días. En los casos en que la diarrea sea muy aguda puede que se requiera hospitalización. Los niños, los ancianos y las personas con el sistema inmunológico comprometido son más susceptibles a complicaciones. Los síntomas más comunes son dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y en ocasiones vómitos. Puede ocurrir deshidratación severa entre los infantes y en personas de edad avanzada. Los síntomas surgen de 6 a 72 horas después de la infección, usualmente comienzan entre 12 y 36 horas y duran de 4 a 7 días, dependiendo de factores del huésped, dosis ingerida ( $10^7$  -  $10^9$ ) y características de la cepa. La enfermedad puede presentar las siguientes complicaciones: deshidratación que puede llevar a la muerte en los niños, los ancianos y los inmunocomprometidos si no son tratados con rapidez, septicemia o abscesos localizados en órganos internos y/o articulaciones; también artritis reactiva (como respuesta autoinmune) que se puede presentar 3 a 4 semanas después del comienzo de los síntomas agudos (Quiróz, 2016).

#### 6.4. Prevención.

Lo más importante que debe recordar es que solamente pueden enfermar si ingiere los gérmenes, estos se destruyen al lavarse bien las manos con agua y jabón y al cocinar los alimentos completamente. Convertir los consejos que se mencionan a continuación en parte de su rutina diaria le ayudará a prevenir no sólo la salmonelosis, sino también otras enfermedades:

- Lávese bien las manos con agua y jabón antes de ingerir o de preparar alimentos, Después de ir al baño, cambiar pañales y de haber tocado sus animales domésticos u otros animales (especialmente reptiles).
- Cocine completamente todos los alimentos que son productos de animales, especialmente las carnes y huevos. No ingiera huevos crudos o rotos, ni la leche y sus derivados sin pasteurizar.
- Mantenga los alimentos tales como vegetales y frutas en un lugar donde no puedan ser contaminados por alimentos derivados de animales.
- Evite la contaminación cruzada Separando las carnes crudas (vacuna, ave o pescado) de otros alimentos en todo momento: cuando realiza las compras, al almacenar en heladera y durante la preparación de las comidas/platos.

#### 6.5. Métodos para la detección de *Salmonella spp.*

Es de gran importancia la detección de *Salmonella spp.*, en alimentos para evitar la Salmonelosis, en animales o seres humanos. Existen numerosas metodologías para el aislamiento e identificación de *Salmonella spp.*, los métodos tradicionales están basadas en la detección del empleo de medios de cultivo selectivos y posterior caracterización de las colonias mediante pruebas bioquímicas y serológicas este tipo de metodología son extremadamente seguras y confiables es por ello que son consideradas Gold Standard, sin embargo los métodos tradicionales de *Salmonella spp.*, en alimentos son de manera lenta, laboriosos, requiere de mucho personal y necesita varios días para su adecuado desarrollo (Leotta & Dallos, 2013)

### **6.5.1. Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo.**

Según La Association of official Analytical Chemist (AOAC) el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella spp*, que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo y todos los microorganismos compiten por los nutrientes. El medio de elección sería Agua Peptonada ya que mantiene el pH favoreciendo el crecimiento de *Salmonella* (Gonzalez, 2015).

### **6.5.2. Enriquecimiento en medio de cultivo selectivo.**

Esta etapa estimula y favorece el crecimiento de *Salmonella spp*, inhibiendo el crecimiento de la flora acompañante. Los medios ideales a utilizar serían los medios selectivos caldos Tetrionato Bilis-Verde Brillantes, Caldo Rappaport-Vasiliadis (RV). El Tetrionato ayuda a inhibir el crecimiento de bacterias coliformes y otras bacterias intestinales, la bilis estimula el crecimiento de *Salmonella*, e inhibe la flora competitiva, el verde brillante impide el desarrollo de la flora gram positiva y el carbonato cálcico actúa como tampón para mantener el pH.

En el medio RV, la verde malaquita inhibe el crecimiento de la flora competitiva, los fosfatos monopotásico y dipotásico mantienen estable el pH del medio durante el almacenamiento y el cloruro magnésico enriquece el caldo favoreciendo el desarrollo de *Salmonella*. La temperatura de incubación del Tetrionato varía dependiendo de la carga microbiana del alimento, si es muy alta se recomienda utilizar una temperatura de 43°C y si la carga microbiana es muy baja, emplear una temperatura de 35°C (Gonzalez, 2015).

### **6.5.3. Aislamiento diferencial sobre medios selectivos.**

En esta etapa es donde aún más se restringe el crecimiento de la flora competitiva y se estimula el de *Salmonella*, por otra parte la diferenciación de los distintos medios permite el crecimiento de colonias con aspecto característicos cada uno de ellas (Gonzalez, 2015).

### Agar entérico Hektoen (HE).

Es un medio ideal para el aislamiento selectivo de *Salmonella*, a partir de los alimentos, este medio contiene sales biliares que inhiben el desarrollo de la flora Gram-positiva de algunas coliformes, el azul de bromotimol y la fucsina ácida son indicadores para la fermentación de hidratos de carbono mientras que el citrato actúa como indicador para la formación SH<sub>2</sub>. Las colonias suelen ser azules o verdes azuladas con o sin centro negro en *Salmonella*, la mayoría producen un centro negro brillante o colonias simplemente negras (Romero, Sanchez, & López, 2015).

### Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).

Es un medio selectivo y diferencial, contiene extracto de levaduras como fuente de nutrientes y vitaminas, utiliza el Desoxicolato de sodio como agente selectivo e inhibe los microorganismos Gram-positivos, la xilosa ayuda a fermentar prácticamente todos los entéricos excepto *Shigella*, la lisina permite la diferenciación del grupo de *Salmonella*, de los organismos no patógenos dado que sin lisina *Salmonella*, fermenta rápidamente la xilosa y no se lograría distinguir entre las especies no patógenas. Muchos cultivos de *Salmonella*, pueden producir colonias con un centro negro brillante o completamente negro (Gonzalez, 2015).

### Agar Bismuto Sulfito (BS).

Es un medio selectivo utilizado para la detección de *Salmonella*, en particular *Salmonella typhi*, y otros bacilos entéricos de muestras clínicas. La Peptona y el Extracto de carne aportan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La Dextrosa es el carbohidrato fermentable y provee de carbono y energía. El indicador de Bismuto sulfito y el verde Brillante son inhibidores de bacterias Gram positivas y de algunas bacterias del grupo coliformes, el sulfato ferroso actúa como indicador en la producción de sulfuro de hidrógeno que se manifiesta en el centro de la colonia por un precipitado negro y un halo negro grisáceo con brillo metálico (Romero, Sanchez, & López, 2015).

#### 6.5.4. Medio de cultivo diferencial.

##### **Pruebas bioquímicas.**

En esta etapa se diferencian las bacterias por su actividad metabólicas, la identificación o confirmación de las colonias presuntivas de *Salmonella spp* (Gonzalez, 2015).

##### Agar triple azúcar hierro (TSI).

Fundamento.

Cuando se utiliza como medio en placa, se emplea para la diferenciación de Enterobacterias, en especial *Salmonella*, de otras bacterias entéricas. El agar triple azúcar hierro contiene tres carbohidratos (glucosa, lactosa y sacarosa). Cuando dichos carbohidratos se fermentan, la producción resultante de ácido es detectada por el indicador rojo fenol, se producen cambios de color: amarillo para la producción de ácido y rojo para la alcalinización.

Se puede fermentar los 3 carbohidratos o uno de ellos dependiendo de la bacteria en estudio, en caso de *Salmonella spp*, es una bacteria de lactosa negativa por lo que esta reacción tendría como resultado alcalino/ácido, *Salmonella*, tiene la enzima tiosulfato, que reacciona con el tiosulfato de sodio como una fuente de azufre para la producción del sulfuro de hidrógeno. Para que esto ocurra debe haber un pH ácido, lo cual se consigue con la fermentación de la glucosa, *Salmonella spp*, tiene la enzima deshidrogenasa fórmica, el ácido fórmico es descompuesto en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>.

##### Agar Lisina Hierro (LIA).

Fundamento.

Es un medio para detectar enzimas que descarboxilan o desaminan la lisina en bacilos Gramnegativos. Adicionalmente detecta enzimas que producen sulfuro de hidrógeno y gas proveniente de la glucosa (Romero, Sanchez, & López, 2015).

##### Prueba de descarboxilación de la lisina.

Si la bacteria posee la enzima descarboxilasa, la descarboxilación de la lisina produce cadaverina, un producto terminal alcalino que acentúa el color violeta del medio. Un requerimiento previo de la descarboxilación es un pH ácido, el cual se logra con la

fermentación de la glucosa. Esta reacción se lleva a cabo en anaerobiosis, por lo que se observa en la parte profunda del medio (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

El género *Salmonella spp*, posee la enzima lisina descarboxilasa, por lo tanto, descarboxilan la lisina excepto la *Salmonella Paratyphi A* que no posee la enzima. Producen gas debido a la presencia de la enzima hidrogenasa fórmica, producen H<sub>2</sub>S (Precipitado negro) debido a la presencia de las enzimas tiosulfatoreductasa y cisteinadisulfurasa.

### Movilidad, indol y Ornitina (MIO).

Fundamento.

Es un medio que se utiliza para determinar la presencia de flagelos, así como las enzimas descarboxilasa de ornitina y triptofanasa. Por lo tanto, sirve para determinar la movilidad, descarboxilación de la ornitina y producción de indol (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Movilidad.

Algunas bacterias poseen flagelos y otras carecen de ellos, las bacterias móviles como *Salmonella spp*, Producirán un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria de los microorganismos. Este medio ayuda a diferenciar las móviles de las no móviles (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Producción de Indol.

Si la bacteria posee la enzima triptofanasa, el aminoácido triptófano será degradado en varios productos entre los cuales está el indol, el cual se hace visible al agregar el reactivo de Kovac (p-dimetilaminobenzaldehido) o Erlich con un color rosado intenso. *Salmonella spp*, no posee la enzima, por lo cual, hay ausencia del indol, el reactivo se ve transparente (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Descarboxilación de Ornitina.

Detecta la presencia de la enzima descarboxilasa de la ornitina, que de estar presente desdobla la ornitina en putrescina, un producto con pH alcalino, lo que hace intensificar el color violeta del medio (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Citrato de Simons

Fundamento:

Se emplea comúnmente como parte de un grupo de pruebas bioquímicas. Es un medio definido, selectivo y diferencial que prueba la capacidad de un organismo para usar citrato como única fuente de carbono e iones de amonio como única fuente de nitrógeno (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Mucato

Fundamento

El mucato es una sal del ácido múxico que es utilizado por algunas bacterias como única fuente de carbono. A diferencia del citrato y malonato, los productos terminales acidifican el medio, lo cual hace virar el indicador de pH del azul al amarillo (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### Malonato

Fundamento

Evalúa la capacidad del microorganismo de utilizar el malonato como única fuente de carbono y la desaminación de la fenilalanina, en forma combinada. Las Enterobacterias no tienen la capacidad enzimática de realizar las dos reacciones simultáneamente, por lo que, o se observa la utilización del malonato o la desaminación de la lisina. Las bacterias que no utilizan el malonato no poseen la enzima fenilalanina desaminasa, por lo que es posible reacciones de malonato y fenilalanina desaminasa negativas (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### VP y Rojo metilo

#### Fundamento rojo metilo:

Esta prueba permite diferenciar 2 vías metabólicas para la utilización de la glucosa: ácido mixto y butanodiólica. Las bacterias RM positivas producen grandes cantidades de ácidos, capaces de disminuir el pH < 4.4. Las bacterias RM negativas continúan metabolizando los ácidos hasta productos neutrales que causan una reversión del pH inicial hasta 6.0. Este comportamiento diferencial se pone en evidencia al agregar un indicador de pH (Rojo de Metilo) que vira de color al rojo si el pH del medio es menor de 4.4 o no varía de color si el pH está por encima de ese valor o es amarillo si el pH es > 6.2 (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

#### Fundamento VP:

Evalúa la utilización de la glucosa por una vía alterna a la del ácido pirúvico. El producto terminal es el acetyl methyl carbinol (acetoína, 3-hidroxi-2-butanona), un compuesto incoloro que es detectado en dos pasos:

1. alcalinización del medio con hidróxido de potasio (KOH al 40%). En presencia de oxígeno, el compuesto vira a lo cual provoca, en presencia del Oxígeno, la oxidación del Acetyl-Methyl-Carbinol adiacetilo.
2. Al agregarle alfa-naftol, el diacetilo vira a un color zapote intenso (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

### **6.5.5. Métodos de Detección Molecular.**

Entre las técnicas moleculares aplicables a la detección de patógenos como *Salmonella spp*, en alimentos, encontramos: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (q-PCR), pirosecuenciación, amplificación basada en la secuencia del ácido nucleico (NASBA), Hibridación de ADN con sondas y micro ensayos, entre otras. La más utilizada es la PCR, cuyo objetivo principal es la multiplicación in Vitro de uno o varios segmentos de ADN, por acción de una enzima ADN polimerasa, ADN dependiente termoestable, PCR es tan útil que incluso un único ejemplar de un gen

puede amplificarse con la PCR hasta un millón de ejemplares en tan solo unas pocas horas (Somma & Querci, 2006).

### Reacción en la cadena de Polimerasa (PCR).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR (siglas de su nombre en inglés Polymerase Chain Reaction) permite generar una gran cantidad de copias de un fragmento de ADN (ácido desoxirribonucleico). El requisito fundamental para poder llevar a cabo la reacción es disponer de fragmentos cortos de ADN de cadena sencilla complementarios a los extremos del fragmento a amplificar. Estos fragmentos servirán como cebadores para que una enzima polimerasa sea capaz de incorporar nucleótidos complementarios a la cadena molde. Una vez completada la reacción la cantidad fragmento amplificado se puede visualizar mediante técnicas sencillas de separación de fragmentos de ADN (Perez, 2011).

### Reacción de cadena polimerasa en tiempo real (q-PCR).

La PCR cuantitativa (en inglés, quantitative Polymerase Chain Reaction; q-PCR o Q-PCR) o PCR en tiempo real, es una variante de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación de ácido desoxirribonucleico (ADN). Para ello emplea, al igual que la PCR convencional, un molde de ADN, al menos un par de cebadores específicos, dNTPs, un tampón de reacción adecuado y una polimerasa termoestable. A dicha mezcla se le adiciona una sustancia marcada con un fluoróforo que permita medir la tasa de generación de uno o más productos específicos. La PCR puede dividirse en tres fases: la de crecimiento lineal, la fase de crecimiento exponencial y la de finalización (plateau). La fluorescencia elevada se produce durante la fase de crecimiento exponencial temprana y el ciclo de PCR en el que se produce es denominado CT (curve threshold) o CP (Crossing Point). Este valor esté relacionado con el número de copias blanco que posea la muestra que se está evaluando, la cual permite que a través de la PCR se realice la cuantificación con un alta especificidad y sensibilidad.

### 6.5.6. Serología y Prueba Oxidasa

#### Fundamento de la prueba Oxidasa:

El tetrametil-parafenilendiamina dihidrocloruro al 1% se emplea para la determinación de la citocromooxidasa. Este reactivo sustituye al oxígeno como aceptor de electrones para la respiración bacteriana, proceso que se lleva a cabo en la membrana celular. En su estado reducido es incoloro, pero en presencia de las enzimas citocromooxidasa se oxida formando el azul de indofenol, visible en los primeros 10 segundos de la prueba.

#### Serología

El género *Salmonella*, contiene una amplia variedad de especies patógenas que afectan al hombre y a los animales en todo el mundo. La identificación completa para *Salmonella*, exige el aislamiento de cultivos, la caracterización bioquímica y la identificación serológica (serotipificación). Los antisueros polivalentes 'O' (somáticos) están previstos para ayudar en la agrupación sérica inicial puede conseguirse la identificación completa de los antígenos O usando antisueros específicos O monovalentes, puede determinarse el serotipo de los aislados de *Salmonella*, mediante el uso de antisueros polivalentes y monovalentes H (flagelos). El principio de la identificación serológica de *Salmonella*, implica la mezcla del organismo sospechoso con antisuero que contenía anticuerpos específicos de *Salmonella*. Las bacterias se aglutinarán (formarán grumos) en presencia del antisuero homólogo (World Health Organization, 2016).

### 6.5.7. Sensibilidad a los antimicrobianos.

#### Método Kirby Bauer.

La prueba de sensibilidad por difusión con discos o método de Kirby-Bauer consiste en colocar discos de papel impregnados de antibióticos en la superficie de un agar previamente inoculado con una suspensión bacteriana de concentración conocida. La concentración del antibiótico disminuye a medida que se incrementa la distancia desde el disco. Se produce simultáneamente la difusión de antibiótico y el crecimiento bacteriano en la superficie del agar. Cuando se alcanza la masa celular crítica de bacterias, después de 4 ó 10 horas, aparece el crecimiento bacteriano. En el área donde la concentración de antibiótico es suficiente para

evitar el crecimiento bacteriano se observa un halo de inhibición con borde definido claramente y con el disco ubicado en el centro del círculo. (Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica, 2004).

Antimicrobianos a utilizar por el método Kirby Bauer:

AMP (Ampicilina 10 ug), SXT (Sulfametoxazol/Trimetoprim 1.25/23.75 ug), CHL (Cloranfenicol 30g), NAL (Ácido Nalidíxico 30 ug), CIP (Ciprofloxacina 5 ug), CRO (Ceftriaxona 30 ug), AMC (Amoxicilina/ Ácido Clavulánico 20/10 ug), CAZ (Ceftazidima 30 ug). (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019).

La Ampicilina tiene un mecanismo de acción bactericida, actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (Penicillin-Binding Proteins) localizadas en la pared celular.

El Trimetoprim/Sulfametoxazol, es generalmente bactericida, actuando al inhibir enzimas secuenciales que intervienen en la síntesis del ácido fólico bacteriano. Farmacocinética: la combinación Trimetoprim-Sulfametoxazol es rápida y extensamente absorbida por el tracto gastrointestinal.

El Cloranfenicol, es generalmente bacteriostático, pero puede ser bactericida a altas concentraciones o frente a organismos muy susceptibles tales como *H. influenzae* y *S. pneumoniae*. La actividad antibiótica parece resultar de la inhibición de la síntesis de proteínas de las células bacterianas.

El Ácido Nalidíxico, es bacteriostático o bactericida en dependencia de su concentración. Parece actuar inhibiendo la síntesis bacteriana del ADN posiblemente interfiriendo con la polimerización del ADN. Se puede desarrollar resistencia rápidamente durante el tratamiento.

La Ciprofloxacina es un agente antibacteriano perteneciente al grupo de las Fluoroquinolonas, la acción bactericida se debe a la inhibición tanto de la topoisomerasa de tipo II (ADN-girasa) como de la topoisomerasa de tipo IV, necesarias para la replicación, la transcripción, la reparación y la recombinación del ADN bacteriano.

La Ceftriaxona, como todos los antibióticos Betalactámicos es bactericida, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana al unirse específicamente a unas proteínas llamadas "proteínas ligandos de la penicilina (PBPs)" que se localizan en dicha pared.

Amoxicilina + Ácido Clavulánico es bactericida, bloquea la síntesis de la pared celular bacteriana e inhibe betalactamasas de amplio espectro.

La Ceftazidima es bactericida, la acción depende de su capacidad para alcanzar las proteínas que ligan penicilinas localizadas en las membranas citoplasmáticas bacterianas y unirse a ellas; inhibe además la síntesis de la pared celular y del septo bacteriano.

Prueba Fenotípica:

Determinación de BLEE por medio de triple disco con CRO, CAZ y AMC.

## VII. DISEÑO METODOLÓGICO.

### 7.1. Área de estudio.

Estuvo constituida por las diferentes cadenas de supermercados del departamento de Managua, que expenden carne molida de res de los dos tipos: económica y súper.

### 7.2. Tipo de estudio.

Descriptivo transversal.

Se realizó un estudio tipo descriptivo, transversal con un enfoque epidemiológico, con el propósito de determinar la presencia de *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua en el periodo comprendido de marzo- abril 2020.

### 7.3. Universo.

El universo fue conformado por los 46 supermercados ubicados en toda Managua, entre los cuales están distribuidos en: cadena A, cadena B, cadena C, cadena D, cadena E.

### 7.4. Muestra.

La muestra estuvo constituida por 2 lotes (1 lote de carne económica y un lote de carne súper) de cada supermercado, de los cuales se obtuvo 5 submuestras por cada lote, por lo tanto, al ser 10 supermercados a muestrear, se obtuvieron 50 submuestras de carne económica y 50 submuestras de carne súper, equivalente a un total de 100 muestras de carne molida a analizar de todos los supermercados.

### 7.5. Muestreo.

El tipo de muestreo que se utilizó fue probabilístico aleatorio estratificado, se seleccionaron 10 de los 46 supermercados del universo, donde se utilizó el programa Microsoft Excel 2016, para conocer la cantidad exacta de las distintas cadenas de supermercados a muestrear de

manera aleatoria (ver anexo Tabla N°1 Distribución de supermercados del universo y Tabla N°2 Distribución aleatoria de supermercados a muestrear por cadenas).

### **7.6. Tipo de muestreo.**

Muestreo Probabilístico estratificado aleatorio.

### **7.7. Criterios de inclusión.**

1. Que los productos sean de los supermercados seleccionados.
2. Que no sean productos de una marca específica.
3. Que el producto sea carne molida fresca.

### **7.8. Criterios de exclusión.**

1. Que los productos sean de otros supermercados.
2. Productos empacados o de marca específica.
3. Producto que tenga mayor tiempo de una semana.

### **7.9. Limitaciones del estudio.**

Nuestra investigación no cuenta con el alcance de describir el serotipo y genotipos en específico debido a los altos costos económicos de los reactivos y Primers a utilizar; también se limita a no realizar análisis físico-químicos de las muestras, ya que este tipo de pruebas no se realizan en el Laboratorio de agua y Alimentos.

### **7.10. Métodos e instrumentos para la recolección de la información.**

- Instrumento.  
Se usó la ficha de recolección de datos (Ver anexo N°10) y la investigación documental para la búsqueda de información de diferentes fuentes.

- **Muestreo y Transporte.**

Para la obtención de la muestra se visitaron los supermercados seleccionados aleatoriamente en compañía con la dirección de Regulación de Alimentos del Ministerio de Salud, haciendo uso de fichas para la recolección de datos concernientes a la investigación, basada en la información observada en el establecimiento y del producto. Se obtuvo los 100 gramos de carne molida de res por cada sub-muestra en las condiciones normales de venta al público, luego se trasladó al laboratorio de Centro de Diagnóstico y Referencia, CNDR, donde se nos facilitó las áreas analíticas, los reactivos y materiales para llevar a cabo el procesamiento de las muestras y su análisis para la detección de *Salmonella spp.*

### **7.11. Procesamiento y análisis de las muestras.**

El procesamiento de las muestras se realizó en los laboratorios del departamento de Aguas y Alimentos del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, la realización del perfil de resistencia, se realizó en el área de Bacteriología del mismo centro.

Dentro de los métodos para la detección de *Salmonella spp.*, están:

#### **1- Extracción del ADN Bacteriano.**

NaOH- Tris/HCl:

1. Se seleccionó un tubo de micro centrifuga y dispense 1 ml Rappaport Vassiliadis.
2. Se centrifugo la muestra durante 5 minutos a 8000 rpm.
3. Se desechó el sobrenadante.
4. Posteriormente se añadió 100 µl de NaOH 25 mmol e incubo a temperatura de 99 °C por 10 minutos.
5. Luego se agregó 100 ul tris/hcl 80 mmol y se mezcló.
6. Se centrifugo a 13000 rpm por 1 min.
7. Por último se extrajo el sobrenadante y se almaceno a temperatura de -20 ° C (Malomy, y otros, 2004).

### 1.1. q-PCR.

El q-PCR se realizó utilizando el equipo StepOne Plus de Applied Biosystems con un volumen total (mezcla de reacción) de 10  $\mu$ l. Para la amplificación se utilizaron las siguientes condiciones: desnaturalización por 5 minutos a 95°C, seguido por 40 ciclos de 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C, la sonda ttr-5 leída por el canal FAM (530 nm), el control interno será leído en el canal VIC (554 nm), se usará un control interno TaqMan® Exogenous Internal Positive Control Reagents VIC Probe de la casa comercial Applied Biosystems (Malomy, y otros, 2004).

Reactivo	Concentración
TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix (2x) (Applied Biosystems)	1X
10XExo IPC Mix (Applied Biosystems)	1X
50XExo IPC DNA (Applied Biosystems)	1X
Primer ttr-6 (forward) CTCACCAGGAGATTACAACATGG	0.4 $\mu$ M
Primer ttr-4 (REVERSE) AGCTCAGACCAAAGTGACCATC	0.4 $\mu$ M
Sonda (ttr-5) FAM-CACCGACGGCGAGACCGACTTDarkQuencher	0.25

## 2. Aislamiento de *Salmonella spp*, según los métodos convencionales.

### a. Pre-enriquecimiento no selectivo:

1. Primeramente, se pesó 25 gr de la muestra en una bolsa Stomacher.
2. Adicionando 225 ml de APB (Agua peptonada bufferada).
3. Por último, se incubó a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}$  C por  $18 \pm 2$  horas.

### b. Enriquecimiento selectivo:

1. Se agitó la bolsa con el medio de pre enriquecimiento (APB) y se transfirió 0.1 ml a un tubo de 10 ml de Rappaport- Vassiliadis e incubó a  $41.5 \pm 1^{\circ}$  C por  $24 \pm 3$  h.

**c. Aislamiento en medios selectivos y diferenciales:**

1. Se Mezcló y agito el tubo de Rappaport Vassiliadis y transfirió con un asa de 3 mm un inóculo a los medios selectivos de enriquecimiento XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato), HE (Hektoen Entérico) y SB (Sulfito Bismuto) incubar a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por  $24 \pm 3\text{h}$ .
2. Luego del tiempo establecido se examinó dichas placas en busca de colonias características de *Salmonella spp*, conforme al medio utilizado.

Colonias crecidas en:

- ✓ XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato): colonias de color rojo con centros negros
- ✓ Agar HE (Hektoen Entérico): colonias son verdes azuladas con o sin centro negro.
- ✓ SB (Sulfito Bismuto): Las colonias crecidas en Agar SB con  $\text{SH}_2$  positiva muestran un centro negro rodeado por un borde claro y de igual manera bordeado por un precipitado negro con brillo metálico por la reducción de iones de bismuto que se transforman en bismuto metálico a veces las colonias son marones grises o verdes.

**2.1.Pruebas bioquímicas.**

Se seleccionó 3 colonias típicas de *Salmonella spp*, de las placas de Agar e inculo en las Sigüientes pruebas bioquímicas:

- TSI (Agar triple azúcar hierro): Se Tomó suavemente una porción del centro de la colonia con asa bacteriológica recta y estéril e inculo por picadura y se estrío con un movimiento en forma de S en la superficie del medio. Se incubo a  $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$  a  $24 \pm 3\text{h}$ .

**Reacción:** rojo/ amarillo, Acida amarillo en el fondo, producción de  $\text{H}_2\text{S}$  y gas.

- LIA (Agar lisina hierro): El medio fue inoculado con la misma UFC que se sembró en TSI, se realizó tres punciones sin tocar el fondo del tubo de tal forma que se hagan los vértices de un triángulo imaginario y se estrío en la superficie con un movimiento en forma de S. Incubar a  $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$  a  $24 \pm 3\text{h}$ .

**Reacción:** Violeta/Violeta, producción  $\text{H}_2\text{S}$ , poca producción de gas.

- Hidrólisis de la Urea: Con un asa recta se estrió la superficie del medio con un movimiento en forma S a medida que retire el asa del tubo.

**Reacción:** color sin cambio.

- MIO (Movilidad, Indol y Ornitina): el asa recta se introdujo hasta la mitad del medio de esta manera se deposita la muestra correctamente.

**Reacciones:**

Movilidad: positiva, turbidez difusa en el medio.

Indol: negativo, ausencia del anillo rojo en la superficie del medio.

Ornitina: positiva, viraje del color.

- Mucato: Con un asa recta se tomó el inóculo e homogenizo en el caldo, inclinando el tubo y se inoculo, tocando la superficie interna del tubo en el ángulo.

**Reacción:** Positiva: color amarillo; Negativo: no hay viraje de color.

- Citrato: con un asa recta se tomó el inóculo, estriando la superficie del agar desde el fondo a la parte superior con un movimiento de ida y vuelta en forma de S a medida que se retiró el asa del tubo.

**Reacción:** Positivo: Cambio de color a azul; Negativo: sin crecimiento ni viraje

- Malonato: Con un asa recta se tomó el inóculo e homogenizo en el caldo y se inclinó el tubo e inoculo, tocando la superficie interna del tubo en el ángulo.

**Reacción:** Positivo: Viraje de color a azul; Negativo: Sin viraje de color.

- VP: Con un asa recta se tomó el inóculo e homogenizo en el caldo y se inclinó el tubo e inoculo, tocando la superficie interna del tubo en el ángulo, se incubo a 35°C al día siguiente se agregó gotas de KOH al 40% y 6 gotas de alfa-naftol, se leyó a los 30 minutos.

**Reacción:** Positivo: Color amarillo; Negativo: Sin viraje de color.

- **Rojo metilo:** Con un asa recta se tomó el inóculo e homogenizo en el caldo y se inclinó el tubo e inoculo, tocando la superficie interna del tubo en el ángulo, se incubo a 35°C al día siguiente se agregó dos gotas de rojo metilo, reacción inmediata.

**Reacción:** Positivo: Color rojo; Negativo: Sin viraje de color.

- **Trealosa:** Con un asa recta se tomó el inóculo y homogenizo en el caldo y se inclinó el tubo e inoculó, tocando la superficie interna del tubo en el ángulo.

**Reacción:** Positivo: color amarillo; Negativo: sin viraje de color.

### 3. Confirmación de la prueba de oxidasa y Serología.

Una vez obtenidos los resultados de la bioquímica, con resultados positivos para *Salmonella spp*, se realizó pase del microorganismo crecido en el TSI a un plato de TSA, se incubó a 37°C por 24 hrs y se realizó la prueba de oxidasa esta consiste en la determinación de la citocromooxidasa.

**Procedimiento:** se realizó la prueba de un cultivo de 18-24 hrs de un medio que no tuviera azucares ni sangre.

- utilizando un palillo de madera se tomó una UFC del plato donde ha sido reproducida la bacteria en estudio.
- se dispersó la colonia sobre la tira.
- El palillo se descartó en un contenedor que tenga cloro.
- El desarrollo de un color de morado a púrpura en los primeros 10 segundos, indica una reacción positiva, la prueba no debe leerse en un tiempo mayor ya que el oxígeno atmosférico interferirá oxidando el reactivo y dando resultados falsos positivos. El resultado negativo, no hay viraje de color en la tira reactiva.

Los resultados esperados para *Salmonella spp*, en esta prueba es oxidasa negativa.

#### 3.1 Serología

Para realizar la serología, se colocó en un plato estéril una gota de solución salina y se tomó una UFC del crecimiento en el TSA con un palillo, se mezcló, si se observa grumos o aglutinación entonces significa que es aglutinable con cualquier sustancia y que no es específica de *Salmonella*, si no se observa grumos o aglutinación se procede a confirmar

con el *Salmonella*, **O antisuero poly A-1 y Vi** , se colocó una gota de este y posteriormente se colocó la UFC y si se observa grumos o aglutinación significa la detección sistemática de posibles aislados de *Salmonella spp.*

Luego de tener resultados positivos para *Salmonella*, en la serología, se realizó la bioquímica completa tomada del TSA, todo esto para una mejor confirmación de *Salmonella spp.*, los medios utilizados y sus reacciones específicas de *Salmonella spp.*, son (Ver Anexos tabla N°7).

#### **4. Procedimiento para realizar antibiograma de *Salmonella*, con el método de Kirby Bauer.**

Preparación del inóculo:

1. Con un asa recta se tomó una UFC del TSA.
2. Se hizo una suspensión homogénea en un tubo de ensayo conteniendo 3 mL de solución salina estéril al 0.85%. (Utilizando un agitador de tubos si lo considera necesario).
3. Se ajustó la turbidez del inóculo a la del estándar 0.5 de McFarland comparándolo visualmente. Para ello, se colocó la cepa problema en una gradilla y a la par el estándar de McFarland. Esta gradilla debe tener en la parte posterior una tira de papel blanco con una o dos líneas negras de 0.5 a 1 cm de ancho, la cual actúa como contraste para comparar la turbidez de los tubos. Si la turbidez del inóculo es menor, se agrega más inóculo. Si la turbidez es mayor, se debe diluir con solución salina.

**Para el inóculo tome en cuenta lo siguiente:**

- a. Los tubos para preparar el inóculo deben ser del mismo diámetro que el que contiene el patrón de McFarland.
- b. El patrón de turbidez deberá mantenerse sellado a temperatura ambiente y en la oscuridad.
- c. Inoculación en el Mueller Hinton y colocación de discos de antimicrobianos.
- d. Introducir un hisopo estéril en la suspensión, luego presionarlo contra las paredes del tubo, con el fin de escurrir el exceso de inóculo. Estriar en tres direcciones, de tal manera que se cubra de manera uniforme toda la superficie del medio.
- e. Dejar secar la placa por un período de 3 a 5 minutos. Nunca dejar secar la placa por más de 15 minutos antes de aplicar los discos de sensibilidad.

- f. Colocar los discos utilizando una pinza sin dientes. Inmediatamente ejerza una ligera presión sobre el centro del disco. También se pueden utilizar aplicadores de multidisco.

**Para el medio de cultivo tome en cuenta lo siguiente:**

- a. El medio de cultivo que emplea para realizar el antibiograma debe conservarse en refrigeración de 4-8°C. Para realizar el antibiograma debe emplearse a temperatura ambiente.
- b. A la hora de ser inoculada, la superficie del agar debe tener la humedad adecuada, sin gotas de condensación, ya que estas absorberán parte del antimicrobiano inmediatamente que los discos sean colocados.

**Para la colocación de los discos tome en cuenta lo siguiente:**

- a. El retardo en la colocación de los discos (más de 15 minutos) induce halos más pequeños.
- b. No se deben mover los discos una vez que han hecho contacto con el agar. Los antimicrobianos se difunden inmediatamente.

**Para los discos de sensibilidad tome en cuenta lo siguiente:**

- a. Los discos que contienen drogas de la familia de los betalactámicos deben mantenerse en freezer a temperaturas menores a -20°C.
- b. Los de uso diario deben mantenerse a temperaturas entre 4° - 8°C.
- c. Deben estar envueltos en paquetes herméticos, con desecante, para protegerlos de la humedad.
- d. Verificar la fecha de vencimiento antes de utilizarlos.
- e. Se deben sacar del refrigerador de 1 a 2 horas antes de su empleo, para que estén a temperatura ambiente al momento de usarlos. Incubar las placas en forma invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.
- f. Las condiciones y tiempos de incubación están en dependencia del microorganismo evaluado.

### **Los sensidiscos usados fueron:**

AMP (Ampicilina), SXT (Sulfametoxazol/ Trimetoprim), CHL (Cloranfenicol), NAL (Ácido Nalidíxico), CIP (Ciprofloxacina), CRO (Ceftriaxona), AMC (Amoxicilina/Ácido Clavulánico), CAZ (Ceftazidima) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019).

### **7.12. Plan de tabulación y análisis.**

Esto se llevó a cabo por medio del procesamiento electrónico de datos, los datos fueron procesados y analizados en el paquete estadístico de Microsoft Excel 2016, donde se creó una base de datos y la realización de tablas para darle una mayor credibilidad a los resultados, a través de gráficos tales como las barras de frecuencia. Posteriormente para la elaboración del trabajo se utilizó el programa de Microsoft Word 2016, para la presentación utilizada en la defensa se trabajó con Microsoft PowerPoint 2016.

### **7.13. Consideraciones éticas.**

Se realizó una carta solicitando el permiso del procesamiento de las muestras dirigida a la dirección del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) y se envió el protocolo de trabajo a la dirección de Regulación de Alimentos del Ministerio de Salud, para obtener la aprobación del tema y poder ser llevado a cabo; las distintas procedencias son conocidas, pero por motivos de ética o especulación, así como los nombres de los supermercados donde se realizará el muestreo son de índole confidencial, solo serán del conocimiento de los autores, Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) y dirección de Regulación de Alimentos del Ministerio de Salud para el respectivo seguimiento, entonces afirmamos que la información obtenida no será divulgada al público o publicada a cualquier medio que cuestione o afecte a dicha empresa, todo será bajo criterios reservados y de completa confidencialidad.

### VIII. Operacionalización de las variables

Variable	Subvariable	Indicadores	Valores	Criterios
Pruebas de enriquecimiento y q-PCR	Rappaport-Vassiliadis	Presencia de <i>Salmonella spp</i>	Turbidez	Positivo
			No hay turbidez	Negativo
	Extracción del ADN-Bacteriano NaOH-Tris/HCL	Curva de amplificación de un fragmento de ADN específico de <i>Salmonella spp</i>	Curva de amplificación	Positivo
			No hay curva de amplificación	Negativo
Aislamiento de <i>Salmonella spp</i>	Medios de cultivos	XLD	Crecimiento de UFC	Colonias características de <i>Salmonella spp</i>
		HK	Crecimiento de UFC	Colonias características de <i>Salmonella spp</i>
		SB	Crecimiento de UFC	Colonias características de <i>Salmonella spp</i>
	Pruebas bioquímicas	TSI	Parte inclinada: fermentación de lactosa. Parte profunda: fermentación de glucosa.	A/AG
			Parte inclinada: no hay fermentación de lactosa, ni sacarosa. Parte profunda: no hay fermentación de glucosa.	K/K
			Parte inclinada: no hay fermentación de lactosa, ni sacarosa. Parte profunda: fermentación de glucosa con producción de gas y sulfuro de hidrógeno.	K/AG+
		LIA	Parte inclinada: No hay diseminación de la lisina. Parte profunda: descarboxilación de la lisina positiva, poco gas.	K/Kg
			Parte inclinada: No hay diseminación de la lisina. Parte profunda: no hay descarboxilación de la lisina ni gas y sulfuro de hidrógeno.	K/A
			Parte inclinada: desaminación de la lisina positivo.	R/Ag+

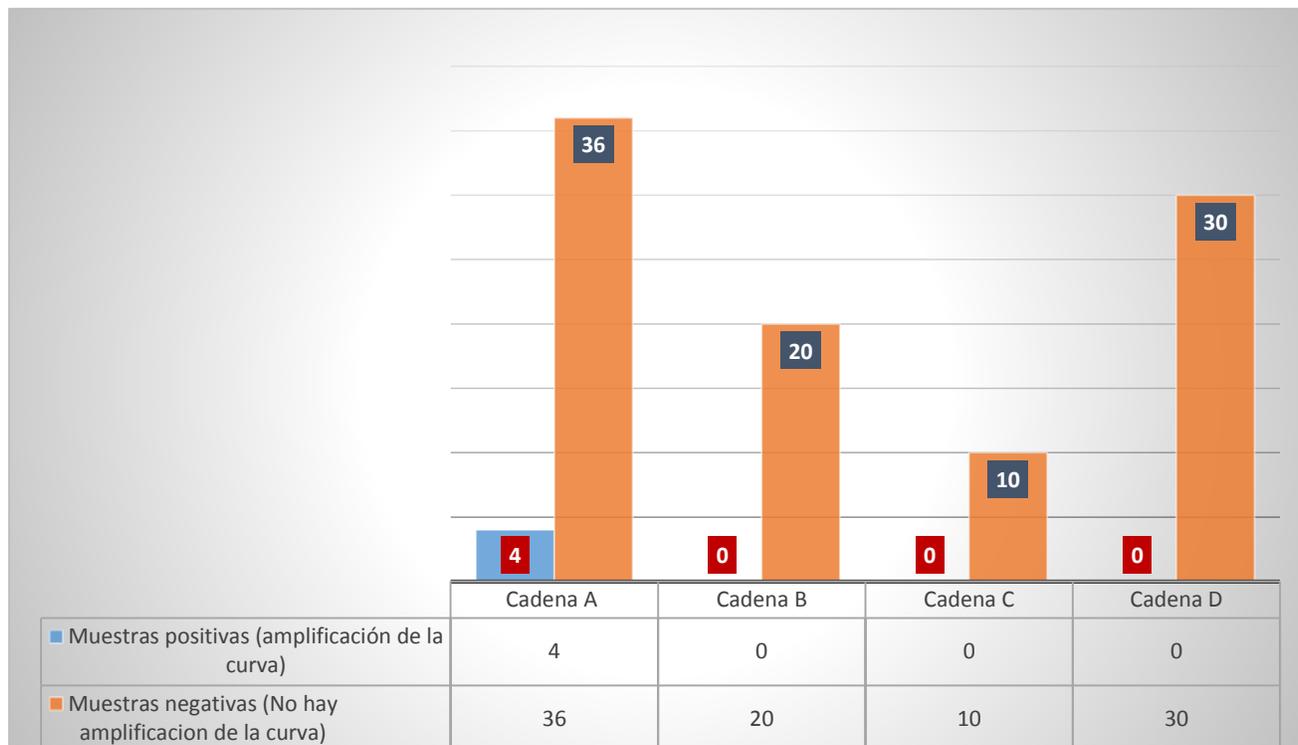
			Parte profunda: No hay descarboxilación de la lisina se produjo poco gas y sulfuro de hidrógeno.	
		MIO	Movilidad	Positiva: se observa turbidez. Negativo: no hay turbidez.
			Indol	Positivo: (anillo rosado) Negativo: ( anillo transparente)
			Ornitina	Positivo: ( no vira de color) Negativo: (vira de color violeta a amarillo)
		UREA	Urea negativa	No hay viraje de color.
			Urea positiva	Viraje de color.
		Malonato	Positivo	Viraje de color: azul
			Negativo	Sin viraje de color
		Citrato de Simmons	Negativo	Sin crecimiento ni viraje de color
			Positivo	Cambio de color Azul
		Rojo metilo	Negativo	Color amarillo
			Positivo	Color rojo
		VP	Negativo	Sin viraje de color
			Positivo	Color amarillo
		Mucato	Negativo	No hay viraje de color
			Positivo	Color amarillo
		Trealosa	Negativo	No hay viraje de color
			Positivo	Color amarillo
	Pruebas serológicas	Poli A-I & V I	Aglutinación	Positivo
				No hay aglutinación
		AMP (10 µg)	≥17	Sensible
			14-16	Intermedio
			≤13	Resistente
		STX (1.25/23.75 µg)	≥16	Sensible

Determinación del perfil de Resistencia de <i>Salmonella spp</i>			11-15	Intermedio
			≤10	Resistente
		CHL (30 µg)	≥18	Sensible
			13-17	Intermedio
			≤12	Resistente
		NAL (30 µg)	≥19	Sensible
			14-18	Intermedio
			≤13	Resistente
		CIP (5 µg)	≥21	Sensible
			16-20	Intermedio
			≤15	Resistente
		CRO (30 µg)	≥23	Sensible
			20-22	Intermedio
			≤19	Resistente
		AMC (20 /10 µg)	≥18	Sensible
			14-17	Intermedio
			≤13	Resistente
		CAZ (30 µg)	≥21	Sensible
18-20	Intermedio			
≤17	Resistente			

## IX. Análisis y discusión de resultados

Se estudiaron 100 muestras de carne molida que incluyen 2 tipos de carne (económica y súper), expendida de los 10 supermercados de Managua, donde se seleccionaron de forma aleatorias del total de 46 supermercados, con el objetivo de alcanzar el aislamiento de *Salmonella spp.*

**Gráfico 1: Determinación de *Salmonella spp.*, mediante q-PCR a partir del caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), según cadena de los supermercados.**



El gráfico N°1, refleja los resultados de muestras positivas de *Salmonella spp.*, mediante q-PCR a partir del enriquecimiento caldo Rappaport-Vasiliadis (RV), según las cadenas de los supermercados. La cadena A es la que predominó con un resultado de 4 muestras positivas y 36 muestras negativas.

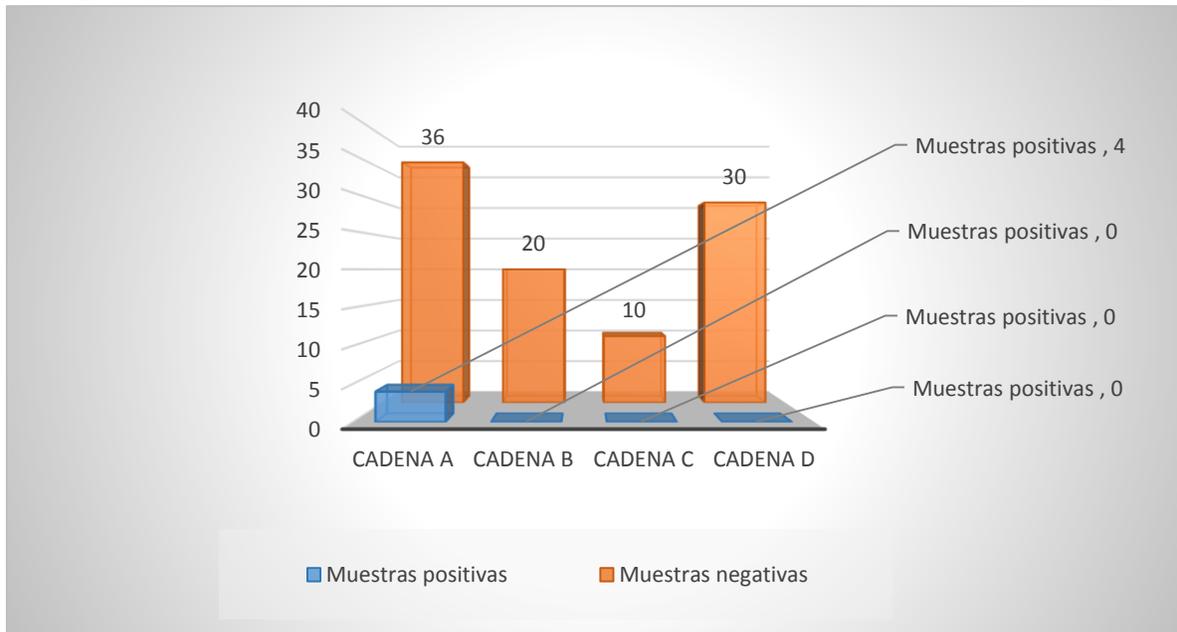
Se tomaron como positivas aquellas muestras cuya curva de amplificación posea las tres etapas del q-PCR, estas deben de pasar el umbral seleccionado de 0.1  $\Delta R_n$  (delta Rn), el

umbral es el ciclo en el cual la fluorescencia generada dentro de una reacción cruza el umbral de fluorescencia, a mayor concentración de ADN bacteriano, será menor el umbral de amplificación y viceversa es decir, son positivas las muestras que atraviesan el umbral, del total de 100 muestras realizadas 4 muestras resultaron positivas y 96 muestras negativas para *Salmonella spp*, según este método.

En la investigación realizada por Romero & col (2015), en donde analizan la comparación del método estándar ISO 6579-2002 con PCR Tiempo Real como prueba de Tamizaje para la detección de *Salmonella spp*, en carne molida de los mercados de Managua, demuestran que las 25 muestras analizadas resultaron 100% positivas por los dos métodos utilizados. Llegando a la conclusión que el método de la q-PCR es una excelente alternativa para realizar pruebas para la detección de *Salmonella spp*, en productos cárnicos. Estos resultados confirman significativamente a nuestra investigación que los resultados obtenidos son confiables.

En la industria alimentaria es de gran importancia garantizar la ausencia de microorganismos patógenos, lo que ha provocado el desarrollo de diferentes metodologías alternas, que permiten una detección rápida y fiable. Los métodos alternativos para los análisis microbiológicos de los alimentos están siendo empleados en los laboratorios oficiales de alimentos. La utilización del q-PCR permite la estandarización de ensayos y la incorporación de sistemas de control de calidad internos que exponen un avance en cuanto a la fiabilidad de los resultados obtenidos (Rojas, 2004).

**Gráfico N°2. Aislamiento de *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en las diferentes cadenas de supermercados de Managua, mediante el método convencional BAM- FDA.**



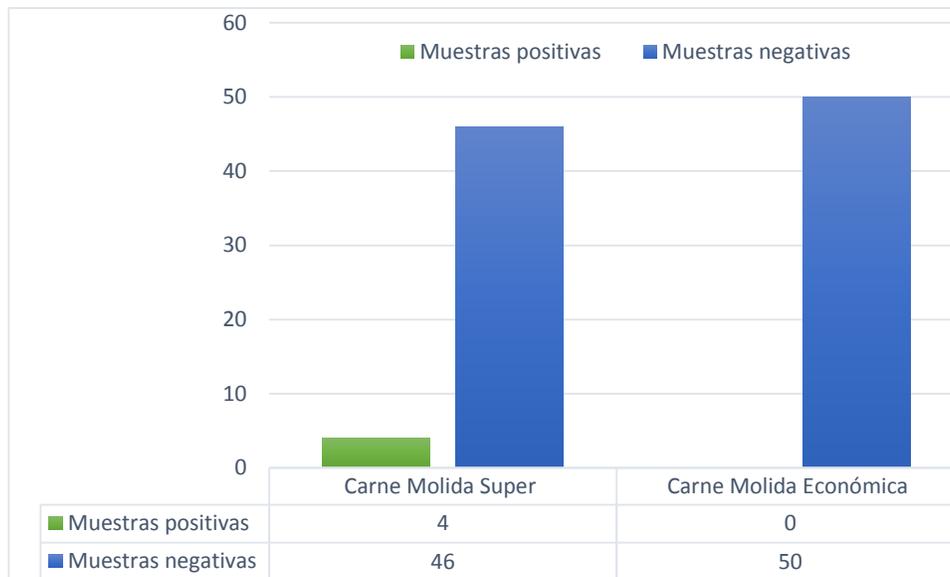
En este gráfico se reflejan todas las muestras procesadas mediante el método convencional, para un total de 100 muestras procesadas, los resultados obtenidos reflejan que solo el 4% de las muestras resultaron positivas y el 96% negativas, los resultados son iguales a los obtenidos mediante la técnica del q-PCR.

El Reglamento Técnico Centroamericano y la NTON 67.04.50:17, establece que los productos cárnicos no deben tener presencia alguna de *Salmonella spp*, por lo que basados en este criterio y a los resultados de la presente investigación se considera que el producto no cumple con lo establecido en el Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense y la RTCA.

En un estudio realizado por Yáñez y col. (2011), se detectó *Salmonella spp*, en diferentes productos alimenticios, con un 68% por el método del q-PCR y 48% por el método convencional. Entre los productos alimenticios está la carne molida que dio como resultado 9,3% por q-PCR y 15,6% por el método convencional. Lo cual difiere significativamente con los resultados obtenidos en nuestro estudio, ya que en nuestra investigación obtuvimos la misma cantidad de muestras positivas en ambos métodos, mientras que el realizado por Yáñez, presenta una variación, obteniendo una mayor cantidad de muestras positivas

mediante el q-PCR en comparación con los obtenidos por el método convencional, sin embargo, nuestros resultados demuestran que ambos métodos son viables en la detección de *Salmonella spp.*

**Gráfico N°3: Identificación de *Salmonella spp.*, por tipo de carne**



El grafico refleja el total de muestras analizadas que corresponde el 50% de carne molida súper y 50% de carne molida económica, la presencia de *Salmonella spp.* se evidenció en la carne molida súper con 4 muestras positivas, en comparación con la carne molida económica, donde no hubo presencia.

Entre los resultados, llama la atención que el total de muestras positivas se determinó en el tipo de carne molida súper, la cual, por su precio y denominación debería ser de mayor calidad en comparación con el tipo económico, por lo cual, podemos mencionar factores que probablemente influyeron en este resultado:

Factores intrínsecos al producto.

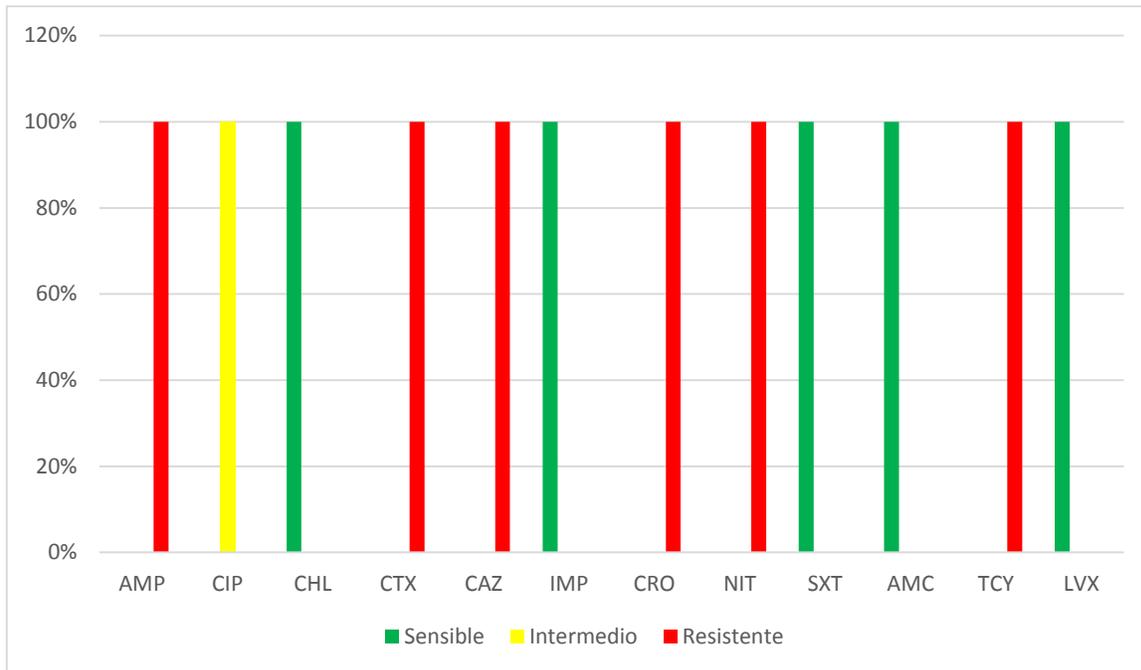
- Mayor cantidad de materia grasa. En la carne molida económica hay una notable cantidad a simple vista de materia grasa, por lo que pudo inhibir al crecimiento de la bacteria en estudio.

- Actividad del agua (aw). Sabemos que la actividad del agua es un requerimiento crucial para el desarrollo de bacterias que debe ser de 0.97 a 0.99 (Organización Panamericana de la Salud, 2020). La carne molida económica, por ser más rica en grasa y estar compuesta por menor cantidad de músculo en comparación con la carne molida súper, cabe la posibilidad que la actividad del agua haya sido menor que los índices requeridos.
- Potencial de Hidrógeno (PH). Las bacterias necesitan un pH neutro para desarrollarse, posiblemente el pH de este tipo de carne en específico haya tenido un pH ácido, lo cual no permitió un desarrollo óptimo de la bacteria. Cabe recalcar que el estudio no contó con análisis físico-químico de las muestras.

#### Factores extrínsecos al producto.

- Transporte. Es determinante el transporte que haya recibido este perecedero al llegar al sitio de venta, es posible que el tipo de carne molida súper haya llegado en un día diferente al tipo económico en condiciones no apropiadas.
- Manipulación. Es probable que la persona encargada haya manipulado más frecuentemente la carne molida súper, por ser el tipo de más demanda debido a su “calidad”, lo cual pudo influir en una mayor contaminación.
- Contaminación cruzada. Debido a que la ubicación de la carne molida súper en el mostrador del supermercado era al lado de la carne de pollo es probable que éste hubiera estado contaminado con la bacteria, dándose de este modo una posible contaminación cruzada.

**Grafico N°4. Perfil de resistencia de las 4 cepas de *Salmonella spp*, mediante el método de Kirby Bauer**



De igual forma, se realizó el análisis de las 4 cepas de *Salmonella spp*, con el objetivo de determinar la resistencia, se utilizó la prueba de difusión por discos (Kirby Bauer) y los resultados se reportaron de acuerdo con los criterios de interpretación propuestos por el (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019).

Según el perfil de resistencia de las cepas de *Salmonella spp*, obtenidos del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) del área de bacteriología, realizado a través de la técnica de difusión por discos (Kirby Bauer), presentan resistencia al grupo de  $\beta$ -lactámicos, Cefotaxima, Ceftriaxona, el 100% de las cepas también presenta resistencia a Tetraciclina, Ampicilina, el 100% también presento una sensibilidad disminuida a Ciprofloxacina, mientras que para Levofloxacina presento una sensibilidad al 100%, junto con Imipenem, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Amoxicilina/Ácido Clavulánico, reportándose de esta forma el mecanismo de resistencia: BLEE positivo, cualquier aislamiento que presente este efecto en el antibiograma debe ser considerado como una prueba confirmativa de la producción de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y debe informarse

resistente a todas las Penicilinas, Cefalosporinas (excepto la cuarta generación como Cefepime) y Monobactames, independientemente del halo de inhibición.

Actualmente el protocolo de antibióticos o el tratamiento alternativo para los pacientes que presentan afectaciones por diarrea, es la Trimetoprim/ Sulfametoxazol, los resultados presentados para este antibiótico reflejan una sensibilidad al 100%, por lo que basados a este resultado hay opción terapéutica.

La sensibilidad disminuida a la Ciprofloxacina (Quinolonas), se sugiere un seguimiento en el estudio de cómo está evolucionando la co-resistencia a otros antibacterianos, en este caso a las Quinolonas, ya que actualmente se han realizado estudios donde se ha encontrado alta resistencia a otros antibacterianos como Aminoglucósidos y Quinolonas, estableciendo probablemente una opción terapéutica fallida. En el estudio de Quesada, & col, (2016.) en donde *Salmonella spp*, fue aislada de alimentos de origen animal para consumo humano, ésta presentó resistencia a más de un antibiótico, incluyendo Ácido Nalidíxico, Estreptomina, Tetraciclina, Cloranfenicol, Ampicilina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Gentamicina, Ciprofloxacina y Cefalosporinas, lo que concluye que los aislamientos de *Salmonella spp*, obtenidos de alimentos de origen animal para consumo humano presentan con frecuencia resistencia a múltiples antibióticos, es por ello, que es necesario el seguimiento de la búsqueda de *Salmonella spp*, en alimentos de consumo humano, y a la vez analizar el comportamiento entre los diferentes antibióticos que se puedan utilizar en la determinación del perfil de resistencia y encontrar los posibles mecanismos que estas puedan presentar.

Ballesteros, y col, (2016) analizaron el perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella spp*, aislados de carne molida en la ciudad de México, en donde se observó alta resistencia a Ampicilina, Carbenicilina, Tetraciclina y Trimetoprim/ Sulfametoxazol, en donde se concluye que la carne de res que se vende en el principal centro de consumo del país está contaminada con serotipos de *Salmonella spp*, relevantes para la salud pública, en comparación con nuestro estudio, se determinó resistencia a la Ampicilina, Tetraciclina, sin embargo trimetoprim/Sulfametoxazol, aún se reporta con alta sensibilidad y entre otros antibióticos analizados.

Entre las posibles causas de la resistencia de los otros antibióticos, podrían ser el uso indiscriminado de antibióticos durante el desarrollo del animal, lo que pudo permitir que las

cepas se volvieron resistentes o también mutaciones en los genes entre las cepas, sabemos que las bacterias tienen su patrón de resistencia natural, en este caso *Salmonella spp*, no posee BLEE naturalmente.

Aunque éste estudio solo refleja el 4% de muestras positivas del 100% de muestras, comprende una proporción resistente que puede afectar la salud humana, sin embargo, no está orientado a investigar los factores determinantes que conllevaron tanto a la contaminación del producto alimenticio como a la adquisición de resistencia de la cepas encontradas, por lo que se considera importante y necesario una investigación profunda donde se abarque los posibles factores que influyen en la contaminación de este producto, de igual forma se evitaría la dispersión del Microorganismo y una posible resistencia a otros antibacterianos.

## X. Conclusiones.

1. Se analizaron un total de 100 muestras de carne molida de res por medio del método q-PCR, obteniendo el 4% de positividad en la detección de *Salmonella spp.*
2. Se logró aislar 4 cepas de *Salmonella spp.*, en las muestras de carne molida de res, mediante métodos convencionales descritos en la BAM-FDA: 2007, coincidiendo con los resultados de la q-PCR, demostrando que ambos métodos, son sensibles para su detección.
3. Al realizar el perfil de resistencia se encontraron resistente a los Bectalactámicos, a las Penicilinas, Nitrofuranos y Tetraciclinas; Ciprofloxacina presentó valores de corte intermedios, por el contrario, resultaron sensibles a Trimetoprim/Sulfametoxazol, Amoxicilina/Ácido Clavulánico, Cloranfenicol, Imipenem y Levofloxacina.

## XI. Recomendaciones.

Recomendamos, **al Instituto Politécnico de la Salud “Dr. Luis Felipe Moncada” (POLISAL) de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**, Instituto que promueve la investigación, que pueda proporcionar éste y otros estudios para que sirva de información **a profesionales y estudiantes de ciencias de la salud**, de ésta manera puedan dar seguimiento y ampliar el estudio, donde se determine el serotipo específico de las cepas de *Salmonella*, encontradas y se busquen los genes de resistencia, ya sea con fines epidemiológicos o educativos, esto en coordinación con la Dirección de Regulación de alimentos, para monitorear la presencia de *Salmonella*, en carne molida de res, no solo de los supermercados; sino también, de los mercados municipales, estando así al tanto del comportamiento de los mismos y evitar posibles multiresistencia que pueda presentar en el futuro ésta bacteria, garantizando la seguridad alimentaria de los consumidores, de igual forma se recomienda la vigilancia del uso de antibióticos durante la crianza del animal, regulado por el Ministerio Agropecuario.

## XII. REFERENCIAS

- Ballesteros, N., Lozano, M., Delgado, E., Medina, D., Varela, D., & Suarez, O. (2016). Perfil de Resistencia a antibioticos de Serotipos de Salmonella spp. aislados de Carne de res molida en la ciudad de Mexico. *Salud Publica de Mexico*, 371-377.
- Cabrera, C., Leon, G., Tejeda, F., Ramirez, B., & Flores, M. (2013). Estudio preeliminar para investigar salmonella spp y E.coli O157:H7 en carne molida de res, de venta en supermercados en la ciudad de puebla, Mexico. *Red de Revistas Cientificas de America Latina, El Caribe, España y Portugal* , 64-69.
- Carrascal, A., Catañeda, R., & Pulido, A. (2011). Perfil de riesgo Salmonella spp en pollo entero y en piezas . 18-19.
- Castañeda, M. (1 de junio de 2017). Diagnostico de salmonella typhimurium en carne molida utilizando dos pruebas rapidas y la tecnica de reaccion en cadena de la polimerasa( PCR). Mexico, Toluca, Mexico.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2019). CLSI,M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE*, 1-282.
- Estrada, E., & Gillen, J. (Diciembre de 2015). *Identificacion del patogeno salmonella spp. en carne molida de res comercializada en el mercado central de chinandega nicaragua en el periodo de octubre a noviembre*. Obtenido de Repositorio UNAN-Leon : <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6711/1/240043.pdf>
- Food Safety and inspection Service. (2018). *Food Withdrawal*. Arizona: 2018.
- Garcia, A., & Mateo, F. (2010). Enterobacterias.
- Gonzalez, J. (2015). Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*.
- Jimenez, J., Muñoz, A., Delgado, D., Rivero, A., & Torre, J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por Salmonella.
- Leotta, G., & Dallos, A. (2013). Detección de Salmonella spp. 3M Food Safety.
- Malomy, B., Paccassoni, E., Fach, P., Bunge, C., Martin, A., & Helmuth, R. (2004). Diagnostic Real-Time PCR for Detection of Salmonella in Food. *Applied and Environmental Microbiology*, 7046-7052.

- Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica. (2004). En *Manual de procedimiento de Bacteriología médica*.
- Marcillo, C., Murillo, A., Ortiz, M., & PARRALES, I. (2019). síndrome diarreico infeccioso causado por salmonella spp. *revista científica mundo de la investigacion y el conocimiento* , 493-508.
- MERCOLA. (6 de febrero de 2013). *Carne de Hamburguesas hecha de carne de caballo y brote de salmonella por la carne molida*. Obtenido de <https://espanol.mercola.com>
- Molina, N. M. (2010). Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de Salmonella enterica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela.
- Organizacion Mundial de la Salud. (20 de octubre de 2020). *salmonellosis* . Obtenido de salmonellosis : <https://www.who.int/topics/salmonella/es/>
- Organización Panamericana de la Salud. (domingo de diciembre de 2020). *peligros biologicos*. Obtenido de peligros biológicos:  
[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es)
- Perez, A. (2011). Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction).
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, A., Colantonio, L., & Burrone, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de salmonella spp. aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* , 32-44.
- Quílez, M. (2002). *Incidencia y Comportamiento de Salmonella y Listeria en pechugas de pavo curadas*. Barcelona.
- Quiróz, S. (2016). Infecciones por Bacterias del Género Salmonella. *Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR-HSJD*, 11-21. Obtenido de [www.salud.gov.pr](http://www.salud.gov.pr)
- Rojas, J. (2004). *Patógenos en Alimentos*.
- Romero, M., Sanchez, E., & López, J. (2 de marzo de 2015). Análisis de la comparación del método estándar ISO 6579-2002 con PCR Tiempo Real como prueba de Tamizaje para la detección de Salmonella spp en carne molida, CNDRMINSA,. Obtenido de repositorio unan: <http://repositorio.unan.edu.ni/1024/>
- Somma, M., & Querci, M. (2006). Analisis de muestras de alimentos para detectar la presencia de organismos modificados genéticamente. *Comision Europea* .
- Urriate, C., & Guevara, G. (2012). *Repositorio institucional de la Universidad de el salvador* . Obtenido de Repositorio institucional de la Universidad de el salvador : <http://ri.ues.edu.sv/2351/>

World Health Organization. (2016). *Antigenic Formulae Of the Salmonella Serovars*. Obtenido de [https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2016/11/Salmonella\\_Antisera\\_Spanish.pdf](https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2016/11/Salmonella_Antisera_Spanish.pdf)

Yáñez, E., Mattar, S., & Durango, A. (junio de 2011). *Determinación de salmonella spp. por PCR tiempo real y Método convencional en canales de bovinos y alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba*. Obtenido de ResearchGate: [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net)

### XIII. ANEXOS

#### 1- Recolección de las muestras de la carne molida



**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**



**Figura 5**



**Figura 6**

## 2- Pre enriquecimiento



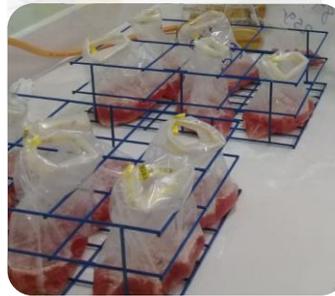
**Figura 7**



**Figura 8**



**Figura 9**

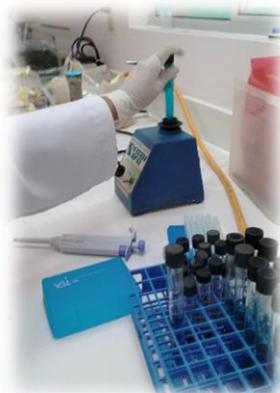


**Figura 10**

## 3- Enriquecimiento



**Figura 11**



**Figura 12**



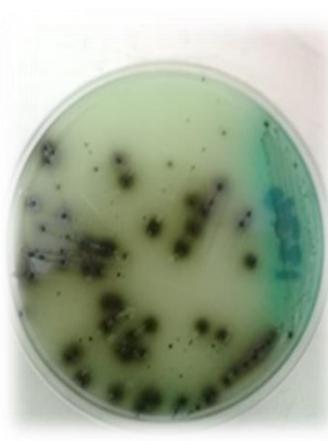
**Figura 13**

## 4- Aislamiento

### 5- Crecimiento en medios selectivos



**Figura 14**



**Figura 15**



**Figura 16**

### 6- Pruebas Bioquímicas



**Figura 17**



**Figura 18**



**Figura 19**



**Figura 20**



**Figura 21**



**Figura 22**

### 7- Serología

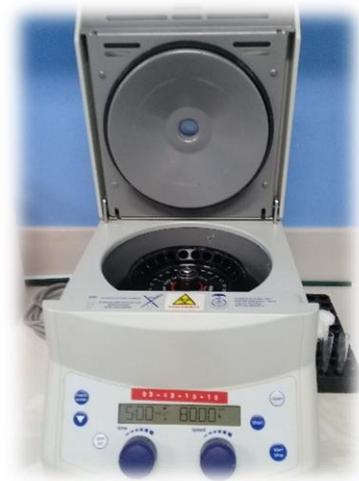
### 8- Extracción y corrida de *Salmonella spp.*



**Figura 23**



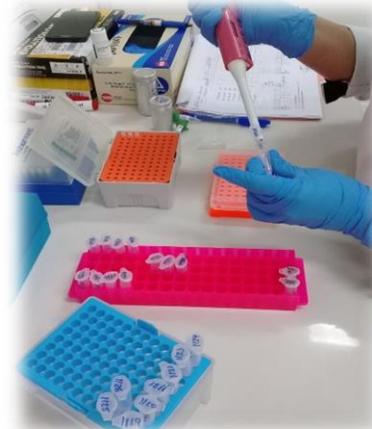
**Figura 24**



**Figura 25**



**Figura 26**



**Figura 27**



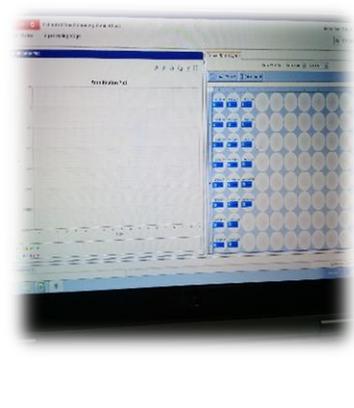
**Figura 28**



**Figura 29**



**Figura 30**



**Figura 31**

### 9. Cronograma de actividades

Actividades	julio				Agosto				septiembre				octubre				noviembre				diciembre				enero				febrero				marzo							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
<b>Elaboración del protocolo</b>																																								
<b>Aprobación del protocolo por POLISAL-UNAN</b>																																								
<b>Aprobación del protocolo por Docencia-MINSA</b>																																								
<b>Entrenamiento de la técnica</b>																																								



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA

N°10 de Anexos

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
UNAN- MANAGUA  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “LUIS FELIPE  
MONCADA”  
DEPARTAMENTO DE BIOANALISIS CLINICO



**Ficha de recolección de datos.**

La siguiente ficha tiene como propósito la recopilación de datos concernientes a las muestras a utilizar en el estudio: “ Determinación de *Salmonella spp*, en carne molida de res expendida en los supermercados de Managua de Marzo-Abril 2020.”

**Remisión de muestras.**

**Empresa o institución:** \_\_\_\_\_

**Departamento:** \_\_\_\_\_

**Resp. del muestreo:** \_\_\_\_\_

**Factura:** \_\_\_\_\_

**Dirección:** \_\_\_\_\_

**Responsables:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

N°	N° de entrada	Código de laboratorio	Nombre del producto	N° de lote	Marca	País de origen	Motivos del análisis
1							
2							
3							
4							
5							
6							

**Observaciones:** \_\_\_\_\_

## Anexos N°11

Promedio	Varianza	N	S1	S2	S3	S4	S5	N1	N2	N3	N4	N5	D
5.62	52.12	46	74.72	58.27	40.84	50.93	54.63	19	7	5	13	2	4.76

**Tabla N°1 Distribución de supermercados del universo.**

**Fuente: Datos obtenidos del programa de Microsoft Excel.**

N= número de unidades muestrales en el estrato. S= desviación estándar. D= error de estimación

Cadenas de supermercados	Cadena A	Cadena B	Cadena C	Cadena D	Cadena E	Total
Cantidad de supermercados por cadena	19	7	5	13	2	46
Total de supermercados a muestrear según los porcentajes obtenidos	4	2	1	3	0	10
Porcentajes de muestras por supermercados	41,3 %	15,2 %	10,9%	28,3%	4,3%	100 %

**Tabla N°2 Distribución aleatoria de supermercados a muestrear por cadena.**

**Fuente: Datos obtenidos del programas de Microsoft Excel.**

En la tabla número 2, en la primera fila se muestran los diferentes supermercados distribuidos por cadenas (A, B,C, D y E), según la razón social de cada uno de ellos, en la segunda fila se muestra la cantidad específica a muestrear de supermercados, teniendo como universo total (46), en la tercera fila se especifica la cantidad final de supermercados a analizar por cada cadena, obteniendo un total de 10 supermercados y en la última fila se representa de forma porcentual.

En la segunda etapa se utilizará igualmente un muestreo aleatorio, para escoger la cantidad de carne que se analizará en este estudio, realizándose de la siguiente manera, por cada supermercado seleccionado se tomaron 10 unidades de 100 gramos de carne molida de res, dividiéndose por consiguiente en: 5 unidades de 100 gr de carne molida económica y 5 unidades de 100 gr de carne molida súper, según la Norma del reglamento técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50:17) de los criterios Microbiológicos para la inocuidad de los alimentos.

**Tabla N°3: resultados de las pruebas bioquímicas de las muestras que presentaron colonias características y sospechosas de *Salmonella spp*, de la cadena A.**

Muestras de la cadena A								
Código de las muestras : (847-866 )(1256-1265) (1272-1281)								
Código de muestras	Medios resultantes con colonias.	Pruebas bioquímicas						Serología
		TSI	LIA	UREA	M	I	O	poli A-I & Vi
847	XLD	K/A+g	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
847	HK	K/A+	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
847	SB	K/A+G	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
848	XLD	K/A+	R/A+	+	+	-	+	N/A
849	XLD	K/A+g	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
849	HK	K/A+g	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
849	SB	K/A+G	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
850	HK	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A
851	HK	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
852	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
855	XLD	K/A+	R/Ag	+	+	-	-	N/A
855	HK	K/A+	R/A	+	+	-	-	N/A
854	XLD	K/K	K/K	+	-	-	+	N/A
854	HK	K/A+	R/A+	+	-	-	+	N/A
856	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	-	N/A
857	SB	K/AG	K/A	+	+	+	+	N/A
859	XLD	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A
860	XLD	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A
861	XLD	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A

<b>863</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/AG	+	+	-	-	N/A
<b>864</b>	<b>XLD</b>	K/A+g	R/Ag	+	+	-	+	N/A
<b>1256</b>	<b>HK</b>	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
<b>1257</b>	<b>HK</b>	A/A+	K/A+	-	+	-	+	N/A
<b>1258</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
<b>1259</b>	<b>HK</b>	K/A+	R/A	-	+	-	+	N/A
<b>1260</b>	<b>HK</b>	A/A+	K/A	-	+	-	-	N/A
<b>1261</b>	<b>HK</b>	A/A+	K/A+	-	+	-	+	N/A
<b>1262</b>	<b>XLD</b>	A/A+	K/Ag	-	+	-	+	N/A
<b>1264</b>	<b>HK</b>	A/A+G	K/K+	+	+	+	+	N/A
<b>1265</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
<b>1272</b>	<b>HK</b>	K/A+g	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
<b>1272</b>	<b>SB</b>	K/A+g	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
<b>1273</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
<b>1274</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/Ag	+	+	-	-	N/A
<b>1276</b>	<b>HK</b>	K/A+	K/K+	-	+	-	+	POSITIVO
<b>1276</b>	<b>VB</b>	K/A+	K/K+	.	+	-	+	POSITIVO
<b>1277</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	-	N/A
<b>1278</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
<b>1279</b>	<b>XLD</b>	K/A+	R/A	+	+	-	-	N/A
<b>1280</b>	<b>XLD</b>	A/A+	R/A	+	+	-	-	N/A

**Tabla N°4: resultados de las pruebas bioquímicas de las muestras que presentaron colonias características y sospechosas de *Salmonella spp*, de la cadena B.**

Muestras de la cadena B								
Código de las muestras : 934-953								
Código de muestras	Medios resultantes con colonias.	Pruebas bioquímicas						Serología
		TSI	LIA	UREA	M	I	O	poli A-I & Vi
936	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
936	SB	K/Ag	K/Ag	+	+	+	+	N/A
937	SB	A/Ag	K/A	+	-	-	-	N/A
939	HK	A/A+g	K/A+g	+	+	-	+	N/A
939	SB	A/AG	K/Kg	+	+	+	+	N/A
940	HK	K/A+g	K/A+g	+	+	-	-	N/A
940	SB	A/AG	K/K	+	-	-	+	N/A
943	SB	A/AG	K/K	-	+	+	+	N/A
946	XLD	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A
946	HK	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
947	SB	A/AG	K/K	+	+	+	+	N/A
948	XLD	K/A+	K/K+	+	-	-	+	N/A
953	HK	K/Ag	K/A	+	+	+	+	N/A
953	SB	K/AG	K/A	-	+	+	-	N/A

**Tabla N°5: resultados de las pruebas bioquímicas de las muestras que presentaron colonias características y sospechosas de *Salmonella spp*, de la cadena C.**

Muestras de la cadena C								
Código de las muestras : 1119-1138								
Código de muestras	Medios resultantes con colonias	TSI	LIA	UREA	M	I	O	poli A-I & Vi
1119	XLD	A/A+G	K/A+g	-	+	-	-	N/A
1120	XLD	A/A+G	K/A+	-	+	-	-	N/A
1121	HK	A/AG	K/Kg	-	+	-	+	N/A
1122	XLD	A/AG	K/Kg	-	+	-	+	N/A
1123	XLD	A/AG	K/K	-	+	-	-	N/A
1126	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
1129	XLD	A/A+G	K/A+g	+	+	-	-	N/A
1129	HK	A/A+G	K/A+	+	+	-	-	N/A
1131	XLD	A/A+G	K/A+G	+	+	+	-	N/A
1132	HK	A/A+G	K/A+	-	+	+	-	N/A
1133	SB	K/A+	R/Ag	+	+	+	+	N/A
1138	HK	K/A+	K/K+	-	-	-	+	N/A

**Tabla N°6: resultados de las pruebas bioquímicas de las muestras que presentaron colonias características y sospechosas de salmonella spp, de la cadena D.**

Muestras de la cadena D								
Código de las muestras : 1541-1560								
Código de las muestras	Medios resultantes con colonias	TSI	LIA	UREA	M	I	O	poli A-I & Vi
1541	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
1543	HK	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
1546	HK	K/A+g	R/A	+	+	-	+	N/A
1547	HK	K/A+	R/Ag	+	+	-	+	N/A
1548	XLD	K/A+	R/A	+	+	-	+	N/A
1548	VB	K/K	K/k	-	-	-	+	N/A
1552	HK	A/A+G	K/A+	-	+	-	+	N/A
1554	XLD	K/K+	R/A	+	+	-	-	N/A
1555	HK	K/K+	R/A	-	+	-	-	N/A
1557	HK	A/A+	K/A	-	+	-	-	N/A
1557	SB	A/A	K/A	-	+	-	-	N/A
1558	SB	K/Ag	K/A	-	+	-	+	N/A

**Tabla N°7 resultados de bioquímica completa dando como resultado positivos para *Salmonella*, en la serología tomada del TSA, todo esto para una mejor confirmación de *Salmonella spp*, los medios utilizados y sus reacciones específicas de *Salmonella spp* son:**

TSI	LIA	Urea	M I O	Citrato	Mucato	Malonato	VP	RM	Trealosa
<b>K/Ag+</b>	<b>K/Kg+</b>	-	+ - +	<b>variable</b>	+	-	-	+	+

16 ENE 2020  
RECIBIDO

Managua, 16 de enero del 2020  
REF.: SG-CJST-010-01-2020

Doctora  
Nathalia Vanessa Salgado  
Directora General de Docencia e Investigación en Salud  
Su despacho. -

Estimada Doctora Salgado, reciba cordiales saludos.  
Después de saludarle cordialmente, tengo a bien dirigirme a usted en relación a comunicación con referencia DGD-NVSQ-1940-12-2019, donde la Ph.D. Zeneyda Quiroz Flores solicita autorización para que las **Bras. Bianka Lizeth Palacios López, Flor de Liz Vega Mayorga y Danna Dayamith Pulido Largaespada**, estudiantes de V año de la carrera de Licenciatura en Microbiología, ingresen al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) para realizar el proceso de análisis de la Monografía con el Tema: **Determinación de Salmonella spp** en carne molida de res expendida en los Supermercados de Managua, en el periodo de marzo-abril 2020.

Al respecto le manifestamos que estamos anuentes en apoyar la realización de las pasantías de los estudiantes; por ello deberán abocarse con el Lic. Justo Reyes, Director Especifico de Microbiología, para las coordinaciones necesarias, al teléfono: 93754395 o bien al correo electrónico: [microbiologia@mins.gob.ni](mailto:microbiologia@mins.gob.ni)

MINISTERIO DE SALUD  
CENTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA  
RECEPCIÓN  
RECIBIDO  
Fecha: 17/01/2020  
Por: [Firma]  
Por: [Firma]  
CC: Lic. Justo Reyes / Director Especifico de Microbiología  
ARCHIVO/CJST-010-01-2020

En atención, aprovecho la ocasión para saludarle.  
Dr. Carlos Saenz "Dña. Concepción Palacios"  
Secretario General

FE,  
FAMILIA  
Y COMUNIDAD!

**CRISTIANA, SOCIALISTA, SOLIDARIA!**  
MINISTERIO DE SALUD  
Complejo Nacional de Salud "Dña. Concepción Palacios"  
Custado Oeste Colonia Primero de Mayo, Managua, Nicaragua.  
FAX: (505) 22647730 - 22647630 - Web: [www.minsa.gob.ni](http://www.minsa.gob.ni)

