



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**“Resistencia de *Escherichia coli* a antibióticos mediante la prueba de disco difusión en terneros de Tartar Grande – Baños del Inca – Cajamarca, 2018”**

## TESIS

Para optar el Título Profesional de  
**MÉDICO VETERINARIO**

Presentada por  
**SÁMY KÁTERIN CHÁVEZ DÍAZ**

Asesor:

**Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez**

Co-asesor:

**Dr. Marco A. Cabrera González**

**CAJAMARCA- PERÚ**

**2018**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA  
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA  
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962  
UNIVERSIDAD LICENCIADA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DECANATO

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las ocho de la mañana del doce de noviembre del dos mil dieciocho, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**César Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada: “**RESISTENCIA DE *Escherichia coli* A ANTIBIÓTICOS MEDIANTE LA PRUEBA DE DISCO DIFUSIÓN EN TERNEROS DE TARTAR GRANDE- BAÑOS DEL INCA- CAJAMARCA, 2018**”, asesorada por el docente: Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez y presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **SÁMY KÁTERIN CHÁVEZ DÍAZ**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó a la sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

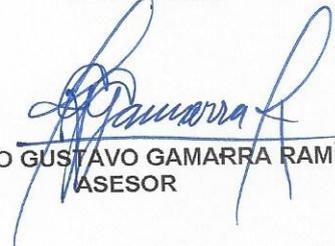
Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **QUINCE (15)**.

Siendo las once horas del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

  
Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN  
PRESIDENTE

  
M.Sc. M.V. MARÍA MANUELA CABRERA NÚÑEZ  
SECRETARIO

  
Dr. GIUSSEPE MARTÍN REYNA COTRINA  
VOCAL

  
Dr. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ  
ASESOR



## **AGRADECIMIENTO**

*A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias Alma Máter, por haberme dado la oportunidad de seguir una Carrera Profesional.*

*Al Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez, por su apoyo constante como asesor en el desarrollo de la presente investigación.*

*Mi gratitud sincera al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Programa de Innovación Agraria Bovinos y Ovinos - EEA. Baños del Inca, por brindarme el apoyo y darme la oportunidad de realizar este trabajo de investigación.*

**LA AUTORA**



## RESUMEN

La investigación se realizó en ocho fundos de ganado vacuno del caserío Tartar Grande- distrito Baños del Inca- Cajamarca, Perú, y los estudios bacteriológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, entre los meses de diciembre 2017 a marzo de 2018, con la finalidad de determinar los niveles de resistencia de *Escherichia coli* frente a 4 antibióticos: Sulfa-Trimetoprim, Oxitetraciclina, Enrofloxacino y Neomicina. Se utilizó 32 muestras de heces procedentes de 4 terneros menores de un mes de edad y sin tratamiento antibacteriano. El cultivo bacteriológico inicial fue en Agar MacConkey, la bacteria *E. coli* fue identificada bioquímicamente mediante el EnteroPluri-Test de Liofilchem y el antibiograma se realizó por el método de disco difusión en Agar Mueller-Hinton. En los resultados se determinó una alta resistencia para Oxitetraciclina (40,6%) y Neomicina (37,5%), en tanto que, frente a Enrofloxacino y Sulfa-Trimetoprim no hubo resistencia.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, resistencia bacteriana, niveles de resistencia bacteriana, diarrea neonatal en terneros.



## ABSTRACT

The research was carried out in eight cattle farms of the Tartar Grande hamlet - Baños del Inca district - Cajamarca, Peru, and the bacteriological studies were carried out in the Veterinary Microbiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Sciences of the National University of Cajamarca. between the months of December 2017 to March 2018, in order to determine the resistance levels of *Escherichia coli* against 4 antibiotics: Sulfa-Trimethoprim, Oxytetracycline, Enrofloxacin and Neomycin. We used 32 stool samples from 4 calves less than one month of age and without antibacterial treatment. The initial bacteriological culture was in MacConkey Agar, the *E. coli* bacterium was identified biochemically by the EnteroPluri-Test of Liofilchem and the antibiogram was performed by the disk diffusion method in Mueller-Hinton Agar. In the results, a high resistance was determined for Oxitetracycline (40.6%) and Neomycin (37.5%), whereas there was no resistance against Enrofloxacin and Sulfa-Trimethoprim.

**Key words:** *Escherichia coli*, bacterial resistance, Bacterial resistance levels, neonatal diarrhea calves.



## ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
SUMMARY	
CAPÍTULO I .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVO GENERAL .....	3
CAPÍTULO II .....	4
MARCO TEÓRICO .....	4
2.1 ANTECEDENTES .....	4
2.2 BASES TEÓRICAS .....	5
2.2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	5
2.2.2 Taxonomía .....	6
2.2.3 Factores de virulencia .....	6
2.2.4 Cepas patógenas de <i>E. coli</i> .....	7
2.2.5 Diarrea en terneros .....	7
2.2.6 Colibacilosis en terneros .....	8
2.2.7 Patogenia de la infección .....	8
2.2.8 Antimicrobianos usados en el tratamiento por <i>E. coli</i> .....	9
2.2.8.1 Sulfamidas .....	9
2.2.8.2 Tetraciclinas .....	9
2.2.8.3 Quinolonas y Fluoroquinolonas .....	10
2.2.8.4 Aminoglucósidos .....	10
2.2.9 Resistencia bacteriana .....	11
2.2.9.1 Tipos de resistencia .....	11
2.2.9.2 Mecanismo de resistencia .....	12
2.2.10 Mecanismo de resistencia a los antibióticos .....	12
2.2.10.1 Resistencia a sulfonamidas y trimetropin .....	12



2.2.10.2 Resistencia a Tetraciclinas.....	13
2.2.10.3 Resistencia a Quinolonas.....	13
2.2.10.4 Resistencia a Aminoglucósidos.....	14
2.2.11 Niveles de Resistencia Antimicrobiana .....	15
2.2.12 Prueba de difusión por disco.....	16
CAPÍTULO III .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
3.1 LOCALIZACIÓN.....	17
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS.....	18
3.2.1 Material biológico .....	18
3.2.2 Materiales de campo .....	18
3.2.3 Materiales y equipos de laboratorio .....	18
3.2.4 Medios de cultivo .....	19
3.3 METODOLOGÍA .....	19
3.3.1 Delimitación de la zona de trabajo .....	19
3.3.2 Criterio de inclusión de los terneros .....	19
3.3.3 Toma de muestras de heces.....	20
3.3.4 Transporte de las muestras de heces .....	20
3.3.5 Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> .....	20
3.3.6 Identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	20
3.3.7 Método para realizar el antibiograma .....	21
3.3.7.1 Preparación del Agar Mueller Hinton .....	21
3.3.7.2 Inoculación .....	21
3.3.7.3 Inoculación en placas.....	21
3.3.7.4 Colocación de discos .....	22
3.3.7.5 Incubación.....	22
3.3.7.6 Lectura de las placas e interpretación.....	22
3.3.8 Interpretación de los diámetros .....	22
3.4. ESTADÍSTICA.....	23



CAPÍTULO IV.....	24
RESULTADOS.....	24
CAPÍTULO V.....	26
DISCUSIÓN.....	26
CAPÍTULO VI.....	28
CONCLUSIONES.....	28
CAPÍTULO VII.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
ANEXO	



## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana se ha definido como la capacidad de un microorganismo de sobrevivir en presencia de un agente antimicrobiano en ciertas concentraciones que en un inicio la inhibían o mataban (Alós, 2015).

La Organización Mundial de la Salud señala que la resistencia antimicrobiana debe ser considerada un problema grave, complejo y de dimensión internacional, y que es conveniente poner en marcha un sistema global de vigilancia, recomendando que se fijen políticas gubernamentales orientadas al uso racional de estos medicamentos en medicina humana y veterinaria (OMS, 1997; OMS, 2000).

Los agentes bacterianos patógenos y comensales pueden adquirir resistencia antimicrobiana, la cual se manifiesta, se mantiene y disemina como consecuencia de la selección ejercida debido al uso indiscriminado de dichas drogas (Van den Bogaard y Stobberingh, 2000).

La diarrea del ternero es un síndrome en el cual se describen múltiples factores que inciden directa o indirectamente en su presentación, sin embargo, *Escherichia coli* es el principal agente infeccioso en los primeros días de vida (Acrez y Cols, 1977; Arezo, 2016; Vallet, 1983), ocasionando en muchas oportunidades un problema infeccioso serio (Foster *et al.*, 2009).

*Escherichia coli* forma parte de la familia Enterobacteriaceae, conformada por 20 géneros, aproximadamente 120 especies y miles de serotipos, integrada por bacilos gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos (Starr, 1986), además es integrante de la microbiota normal del hombre y de muchos animales; por ello su

presencia se considera como un indicador de contaminación fecal reciente (Lim, 2010), considerándose la causa principal de diarrea (Torres *et al.*, 2001).

En el tratamiento se han utilizado antibióticos con resultados muy variables, debido a la habilidad de la *E. coli* de desarrollar resistencia a los antibióticos, teniendo el desarrollo de resistencia a los antibióticos que implica un cambio genético estable, hereditario de generación en generación, estos cambios mutacionales que confieren resistencia a una droga pueden simultáneamente alterar los factores de virulencia y afectar la patogenicidad del microorganismo (Ingraham e Ingraham, 1998).

El nivel en el cual se presenta el problema de la resistencia de *Escherichia coli* frente a los antibacterianos ha sido reportada en diversas publicaciones, reconociéndose su seria importancia para la salud animal (Spetter *et al.*, 2015; Gaggianesi *et al.*, 2016; Hervé *et al.*, 2017).

En Cajamarca se cría ganado vacuno, presentándose en muchos casos problemas de salud por la frecuente presencia de diarreas en los terneros menores de un mes y conociéndose que *Escherichia coli*, es uno de los agentes más comunes, se hace notoria la importancia de realizar estudios que permitan conocer el nivel de resistencia de dicha bacteria frente a antibióticos en terneros con diarrea en el caserío de Tartar Grande, distrito de Baños del Inca –Cajamarca.

## 1. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Determinar la resistencia y los niveles de esta en *Escherichia coli* a antibióticos mediante la prueba de disco difusión utilizando Sulfa-Trimetoprim, Oxitetraciclina, Enrofloxacino y Neomicina, en terneros con diarrea, procedentes de Tartar Grande – Baños del Inca- Cajamarca, 2018.



## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Trabajos realizados en distintos países mencionan la importancia de la diarrea en terneros, ya que implica pérdidas debido a la mortalidad y retraso en su desarrollo (Moon et al., 1978; Martel y Perrin, 1981; Renault, 1981; Pohl et al., 1984; Barrandeguy et al., 1985).

Un estudio realizado en Argentina sobre diarrea neonatal en terneros menciona que *E. coli* puede afectar a terneros recién nacidos y hasta los 45 días de vida (Margueritte et al., 2001).

En el mismo país se han reportado tasas de incidencia de 60% (Margueritte et al., 2005) y en México en una tesis sobre la prevalencia de *Escherichia coli* en terneras lactantes procedentes de diferentes establos en Chihuahua concluyeron que la edad, relacionada con la mayor susceptibilidad para que se presente infecciones por esta bacteria está en los animales menores de 10 días de edad; de igual manera se indica que la predilección para desarrollar diarrea no tiene relación con el sexo y que el hecho de suministrar calostro en buenas dosis puede influir en el desarrollo de una mejor resistencia frente a serotipos patógenos (Saldaña, 2009).

En Chile un estudio en ganado bovino de leche y carne, aisló e identificó cepas de *E. coli* en heces, las cuales presentaban resistencia por encima del 50% a la enrofloxacin (San Martín et al., 2005).

También se realizó un estudio retrospectivo de multirresistencia antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* de terneros con diarrea neonatal en el que se demostró que *E. coli* presenta multirresistencia y está

ampliamente distribuida en los aislamientos de terneros con diarrea con mayor importancia en los aislamientos de obtenidos de terneros procedentes de rodeos lecheros (Spetter et al., 2015).

Estudios realizados sobre resistencia han demostrado que la terapia antimicrobiana es esencial para disminuir la morbilidad y mortalidad asociadas a la diarrea y septicemia de los terneros (Constable, 2009). Sin embargo, el uso sistemático e indiscriminado de antimicrobianos ha contribuido al incremento de la resistencia (Moredo et al., 2007).

## 2.2. BASES TEÓRICAS

### 2.2.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Von Escherich y fue denominada inicialmente como "Bacterium coli commune" pero en 1954 fue renombrada *E. coli* en honor a su descubridor (Croxen *et al.*, 2013). Es uno de los microorganismos más estudiados y forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal del ser humano y los animales (Agurto, 2009).

Presenta distintas características morfológicas y reacciones bioquímicas específicas, es un bacilo cilíndrico gram negativo, oxidasa negativa con un tamaño promedio de 1.1 a 1.5 de ancho y 2.0 a 6.0  $\mu\text{m}$  de largo (Croxen *et al.*, 2013). De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos (Scheutz y Strockbine, 2005).

Su cubierta celular es del tipo didermo y está constituida por membrana citoplasmática externa, formada por una capa de fosfolípidos con proteínas intercaladas, sobre ésta se sitúa una capa fina de peptidoglicano y entre ambas se encuentra el espacio o gel periplásmico, por encima se sitúa la membrana externa constituida por una bicapa de fosfolípidos intercalada con distintos componentes como

el lipopolisacárido (LPS), lipoproteínas y porinas. Además, en el caso específico de las enterobacterias, aparecen 3 componentes como flagelos, fimbrias o pili y las adhesinas no fimbrias (Mandell y Bennett *et al.*, 2005).

La estructura antigénica está formada por tres clases de antígenos: antígenos somáticos o antígenos O son cadenas de polisacárido procedente del LPS capsular que están presentes en todas las bacterias gram negativas; es el que le confiere especificidad serológica. Antígenos flagelares o antígenos H son proteínas que se localizan en los flagelos y finalmente los antígenos capsulares o antígenos K presentes en cepas con cápsula, constituyen una barrera defensiva disminuyendo la capacidad de los anticuerpos para unirse a la bacteria, son un factor de virulencia fundamental porque impide la fagocitosis (Murray *et al.*, 2006).

### 2.2.2. Taxonomía

Phylum : Proteobacteria  
Clase : Gammaproteobacteria  
Orden : Enterobacteriales  
Familia : Enterobacteriaceae  
Género : *Escherichia*  
Especie : *Escherichia coli* (Scheutz y Strockbine, 2005).

### 2.2.3. Factores de virulencia

Los factores de virulencia son todas las estructuras o productos bacterianos que intervienen en el proceso infeccioso de las enterobacterias; estos factores de virulencia producen los diferentes síndromes clínicos ya que las fimbrias y adhesinas se adhieren a las mucosas, siendo éste el primer paso para la colonización bacteriana, además producen toxinas como la endotoxina o lipopolisacárido de la pared y otras endotoxinas como la hemolisina, las citotoxinas y además poseen plásmidos los cuales son unidades de ADN extracromosómicos e intracitoplasmáticos con capacidad de autorreplicación, que juegan un papel fundamental en la codificación de información para su acción

patógena; se les conoce como islas de patogenicidad; así como para la resistencia a los antibióticos (Mandell y Bennett *et al.*, 2005). Existen dos tipos de factores, los generales y los específicos. Los factores de virulencia generales pertenecen a toda la familia Enterobacteriaceae y los factores específicos son propios de cada cepa de *E. coli* (Murray *et al.*, 2006).

#### **2.2.4. Cepas patógenas de *Escherichia coli***

La bacteria *Escherichia coli* es parte de la microbiota intestinal normal de personas y animales donde, por lo general, es inocua. Sin embargo, *E. coli* puede causar enfermedades graves. Un número de cepas enteropatógenas pueden causar diarrea aguda. Se han determinado varios tipos de *E. coli* enteropatógenas, basándose en diferentes factores de virulencia: *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD) (Nataro y Kaper, 1998; O'Connor, 2002).

#### **2.2.5. Diarrea en terneros**

La diarrea infecciosa sigue siendo uno de los mayores desafíos de la salud tanto en ganado bovino de carne como de leche, más del 20% de propietarios de ganado de carne informan que la diarrea en terneros tiene un impacto en su productividad económica y representa más del 50% de la mortalidad de terneros en granjas lechera (Foster y Smith, 2009). Actualmente, *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y *Cryptosporidium parvum*, rotavirus y coronavirus parecen ser las causas infecciosas más significativas de diarrea en terneros (Acres, 1985; Myers y Guinee, 1976).

### 2.2.6. Colibacilosis en terneros

La enfermedad más importante y severa que afecta a los animales recién nacidos es la colibacilosis, causada por la *Escherichia coli*, este bacilo es un habitante normal de la flora intestinal, aunque ciertas cepas cuando están en cantidades suficientes son patógenas de por sí y desarrollan procesos patológicos bajo ciertas condiciones (Al-Majali, 2000), siendo una de las principales causas de diarreas en terneros neonatos es *Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC)*, llegando a ocasionar rápida pérdida de peso, deshidratación y muerte, esto se produce sobre todo como consecuencia de las enterotoxinas producidas (Acres, 1985; Gyles y Fairbrother, 2010).

### 2.2.7. Patogenia de la infección

La bacteria *E. coli* tiene alta capacidad de adquirir resistencia a antimicrobianos pues posee una amplia diversidad de hábitats (Souza *et al.*, 2001), es por ello que la transmisión de genes permite el desarrollo de una mayor resistencia a diferentes antimicrobianos pudiendo convertirse en un importante de tipo multidrogoresistente (García *et al.*, 2010).

Se distinguen grandes grupos de *E. coli* patógenas según el tipo de infección que provocan, constituyéndose un grupo por las cepas responsables de infecciones extra intestinales tales como: Infecciones del aparato urinario, generalmente causadas por cepas que producen adhesinas permitiendo la colonización del tracto urinario superior y su no eliminación a través de la orina. Así también los casos de meningitis neonatal causados generalmente por cepas que tienen el antígeno capsular K1 y que se encuentran colonizando normalmente el tracto digestivo de mujeres embarazadas y recién nacidos y las cepas de la septicemia, que proviene generalmente de infecciones del tracto urinario o digestivo y genera una alta mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, con infecciones de abdomen o sistema nervioso central (Murray *et al.*, 2006).

## 2.2.8. Antibióticos usados en el tratamiento de infecciones por *E. coli*

### 2.2.8.1. Sulfamidas

Son fármacos antimicrobianos de amplio espectro que alteran la síntesis de proteínas y los mecanismos de replicación microbiana, por si solas ejercen una acción bacteriostática, pero en combinación con trimetropina (sulfametropin) u otras diaminopirimidas pueden ejercer una acción bactericida (Plumb, 2006). En estos antibacterianos se ha desarrollado el fenómeno de la resistencia, debido a que las sulfonamidas tienen más de 50 años de uso, y las bacterias han adquirido mecanismos que les permiten sobrevivir en su presencia. Por lo general, presentan mutaciones en los cromosomas que hacen que la sulfonamida no actúe eficazmente o tenga poca penetración, o bien que la propia bacteria experimente producción de enzimas dihidropteroato sintasa insensibles o hiperproducción de ácido para-amino benzoico (PABA). La resistencia mediada por plásmidos es muy común, y existe resistencia cruzada entre sulfonamidas (Botana, 2002)

### 2.2.8.2. Tetraciclinas

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos y uno de los grupos clásicos de antibióticos de amplio espectro, siendo efectivas contra bacterias gram negativas, tanto aerobias como anaerobias, así como gram positivas e incluso contra algunos protozoos. Como en muchos otros casos, el incremento de la resistencia en los patógenos más comunes, agravado por la utilización de estos antibióticos como promotores de crecimiento, ha limitado su uso terapéutico en los últimos años. Actualmente suelen utilizarse de primera elección preferentemente en rumiantes y ganado porcino (Botana, 2002). Las bacterias más sensibles son *Streptococcus sp.*, *Clostridium sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Brucella sp.*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus pertusis*, neumococos y gonococos. Las bacterias moderadamente sensibles son *Corynebacterium sp.*, *E. coli*,



*Pasteurella. sp.*, *Salmonella sp.*, *Bacillus anthracis* y meningococos (Plumb, 2006). Actualmente se conocen al menos 12 mecanismos distintos de resistencia, muchos de ellos están codificados por genes localizados en plásmidos y transposones, lo que facilita su diseminación. En Medicina Veterinaria las tetraciclinas de mayor uso son la oxitetraciclina y la doxiciclina (Sumano, 2006).

#### **2.2.8.3. Quinolonas y Fluoroquinolonas**

Las quinolonas y fluoroquinolonas son el grupo de fármacos sintéticos de más desarrollo en la actualidad teniendo como sitio de acción la girasa de DNA o topoisomerasa II, una enzima esencial para la duplicación del material genético bacteriano (Plumb, 2006). Las primeras quinolonas (ácido nalidíxico y oxolónico) son compuestos de pequeño espectro, activas solo frente a enterobacterias gram negativas, en comparación, el espectro de todas las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, enrofloxacino, etc.) es considerablemente más amplio e incluye bacterias aerobias gram negativas y algunos microorganismos gram positivos, aunque tienen capacidad limitada frente a *Streptococcus* y *Enterococcus* (Botana, 2002). Las fluoroquinolonas son en su mayoría hasta cuatro veces más potentes como bactericidas a la misma concentración considerada como mínima inhibitoria, lo que las hace especialmente atractivas para el uso clínico (Sumano, 2006).

#### **2.2.8.4. Aminoglucósidos**

Los aminoglucósidos se utilizan principalmente en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos aeróbicos gram negativos y pueden tener actividad contra algunos gram positivos, como *Staphylococcus aureus*, algunas especies de micobacterias, micoplasmas y espiroquetas, limitándose su uso al tratamiento de infecciones causadas por gram negativos resistentes a otros fármacos menos tóxicos y con periodos de retiro más cortos. (Sumano, 2006). La restricción en el uso de estos fármacos se da por: la toxicidad de la mayoría de antibióticos miembros de este grupo, la importancia

creciente de las resistencias microbianas, la producción de residuos que permanecen largo tiempo en los tejidos. Entre los más usados con mayor frecuencia tenemos neomicina, gentamicina, amikacina y estreptomina. (Botana, 2006).

### **2.2.9. Resistencia antibacteriana**

Se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida de una bacteria de permanecer resistente a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico (Daza, 2004).

#### **2.2.9.1. Tipos de Resistencia**

Se mencionan dos tipos de resistencia, una de ellas la natural o intrínseca, la cual es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos, es así que, todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas pudiendo sobrevivir (Guerra, 2000). También se menciona que la resistencia intrínseca son las propiedades innatas de las bacterias resistentes a algunos antimicrobianos debido a la pared celular, que proporciona a las bacterias una permeabilidad no selectiva. En tales casos, sólo las moléculas pequeñas pueden pasar, y las moléculas grandes tales como antimicrobianos no pueden. Por ello las bacterias gram positivas son más susceptibles a los antimicrobianos debido a que carecen de la membrana celular compuesta de lipopolisacáridos y proteínas (Quinn, 2002).

Así mismo la resistencia adquirida en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases del cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias ya que se trasmite de forma vertical de generación en generación o por la transferencia de genes horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como intrones y transposones; esto último permite la transmisión a otras generaciones y



también a otras especies bacterianas, de esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos (Guerra, 2000).

### **2.2.9.2. Mecanismos de resistencia bacteriana**

Las bacterias han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de los antibióticos (Hart, 1998; Elliot, 1999; Lay 1994). Existen tres mecanismos bien descritos, el primero de ellos es por la posición de un sistema de expulsión activa del antimicrobiano, una especie de bomba expulsora que utilizan las bacterias para la excreción de productos residuales o tóxicos, con la que puede eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos, el segundo, mediante la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada (porinas) y finalmente la producción de enzimas inactivantes de los antibióticos constituye el tercer mecanismo, es así que son inhibidos los aminoglucósidos, el cloranfenicol por la acetil transferasa (Lay, 1994) y el caso más típico, el de las beta lactamasas, para el grupo de los beta lactámicos (Harwell y Brown 2000; Hedberg, 1996)

### **2.2.10. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos**

#### **2.2.10.1. Resistencia a Sulfonamidas y Trimetoprim**

El mecanismo de acción de las sulfamidas está relacionado a su similitud estructural con el ácido-para-aminobenzoico (PABA), componente del ácido fólico, impidiendo su utilización normal por parte de la bacteria, mientras que el trimetoprim es un análogo estructural de la pteridina, componente de la molécula del ácido fólico, que actúa evitando la reducción del dihidrofolato en tetrahidrofolato (Blanco et al., 2002). La resistencia a la sulfamida emana de la sobreproducción de ácido-paraaminobenzoico probablemente debido a una mutación del ADN cromosomal, y la resistencia al trimetoprim debida a la baja afinidad por las dihidrofolato reductasa (Malik et al., 2005). Si bien los mecanismos



de resistencia a las sulfamidas y trimetoprim no han sido específicamente investigados en caninos y en humanos, los genes que codifican para la dihidrofolato reductasa (dfr) A y B han sido identificados (Malik et al., 2005).

### **2.2.10.2. Resistencia a Tetraciclinas**

Las tetraciclinas son antimicrobianos bacteriostáticos que actúan inhibiendo la síntesis proteica en la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos. Las tetraciclinas tienen un amplio espectro que incluyen bacilos gram positivos y gram negativos aerobios y anaerobios (Blanco et al., 2002). La adquisición de resistencia a la tetraciclina se produce de forma lenta, progresiva y en múltiples escalones. Puede ser cruzada, aunque doxiciclina y minociclina pueden seguir siendo activos, por el grado de lipofilia que le permite una mejor penetración sin requerir el transporte activo (Escolar et al., 1998). El mecanismo responsable es el sistema de bomba de salida, que produce la disminución en la capacidad de penetrar al interior de la bacteria (Daza, 2004). Estos mecanismos de resistencia son transferibles por plásmidos e inducibles. Ocasionalmente las bacterias pueden producir también enzimas inactivadoras (Escolar et al., 1998)

### **2.2.10.3. Resistencia a Quinolonas**

Las quinolonas son antibióticos con un amplio espectro de actividad contra bacterias gram positivas y gram negativas. Este antibiótico inhibe la ADN girasa o topoisomerasa II, que es una enzima responsable del desenrollamiento del ADN durante su replicación. El espectro de acción de las quinolonas es similar en todos los miembros de una misma generación y se va ampliando según avancen las generaciones. (Blanco et al., 2002). Se conocen 4 mecanismos de resistencia a las quinolonas. El primer mecanismo es la mutación cromosómica de la ADN-girasa observada en *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium jejuni*. El segundo mecanismo se basa en las alteraciones que se producen en el mecanismo de penetración de



la membrana externa visto en bacilos gram negativos como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. En el tercer mecanismo se produce alteraciones energéticas en la membrana citoplásmica que generan dificultades en la incorporación de la droga a la bacteria como en el caso de *Escherichia coli*. Finalmente, el cuarto mecanismo produce un incremento de la bomba de salida del antibiótico produciendo la expulsión de la droga fuera de la bacteria en el menor tiempo posible, mecanismo observado principalmente en *Staphylococcus aureus* (Daza, 2004). Las Fluoroquinolonas, como la enrofloxacino, ciprofloxacino, marbofloxacino y últimamente la gatifloxacino, han sido eficaces contra especies de *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.* y *Proteus sp.*, debido a una mejora en la unión a la DNA-girasa, que aumenta la penetración celular hasta en 70 veces con respecto a las demás quinolonas (Daza, 2004).

#### 2.2.10.4. Resistencia a Aminoglucósidos

Estos antimicrobianos bactericidas actúan sobre la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos interfiriendo con la síntesis de proteínas Su actividad antimicrobiana está orientada a bacilos gram negativos aerobios. Combinado con betalactámicos tiene efecto contra cocos gram 15 positivos (Blanco et al., 2002). A pesar de que su nivel de resistencia es bajo (< 10 %), existen gérmenes patógenos capaces de resistir a su actividad antimicrobiana (Daza, 2004). La resistencia a los aminoglucósidos se produce por modificación enzimática, debido a la acción de enzimas que modifican y a la vez detoxifican la molécula de antibiótico (Blanco et al., 2002). Una gran variedad de genes que codifican la resistencia a los aminoglucósidos por las acetiltransferasas, las nucleotidiltransferasas y las fosfotransferasas han sido descritos en los estafilococos (Malik et al., 2005). El efecto de las enzimas depende de su afinidad por el aminoglucósido en cuestión (Daza, 2004). Otros mecanismos como alteraciones en el transporte del antibacteriano al interior de la célula, defectos en la permeabilidad de la pared o en ocasiones por falta de producción de proteínas en la membrana externa, como ocurren naturalmente con



bacterias anaeróbicas y por últimos, alteraciones en el sitio blanco, en este caso en los ribosomas, como acontecen en cepas de *Enterococcus sp.* (Daza, 2004).

Es importante mencionar que varios estudios mencionan que *E. coli* es una de las bacterias que presenta la mayor diversidad de mecanismos de resistencia antimicrobiana dentro de la familia Enterobacteriaceae (Werckenthin et al., 2012; Gow et al., 2008). Además, tiene la particularidad de ser muy eficiente para aumentar la resistencia, no sólo por su rápida multiplicación, sino también por su capacidad para transferir genes de resistencia hacia otras cepas o especies bacterianas (Thrusfield, 2005; Alexander et al., 2008). Uno de los factores por el que cual se tienen animales infectados con *E. coli* resistente tiene que ver con el uso de antibióticos como suplementos alimenticios en la leche (Berge et al., 2006) y los factores de riesgo asociados al medio ambiente y las deficiencias en el manejo juegan un papel importante en la aparición, difusión y evolución de la enfermedad (Inglis, 1960; Loosmore, 1964; Wray y Thomlinson, 1975).

#### **2.2.11. Niveles de Resistencia Antimicrobiana**

En referencia a la medición de los valores porcentuales de resistencia bacteriana en el laboratorio y su interpretación adecuada, actualmente existen instituciones internacionales tales como la EFSA y la ECDC, las cuales publican anualmente documentos relacionados con la problemática de las infecciones transmitidas por alimentos, así como también temas de salud pública a nivel europeo, los mismos que pueden ser utilizados a nivel internacional; es así que en publicación del 2013 se presenta la tabla de niveles de resistencia antimicrobiana que se emplea para determinar la situación de dicha resistencia en estudios efectuados, tanto en alimentos como en casos clínicos en animales. Dicha tabla incluye los siguientes niveles:

**Cuadro 1.** Niveles de resistencia antimicrobiana según EFSA y ECDC

Denominación del Nivel de resistencia antimicrobiana	Porcentaje de resistencia antimicrobiana
Muy Alto	>50 % a 70 %
Alto	>20 % a 50 %
Moderado	>10 % a 20 %
Bajo	>1 % a 10 %
Muy Bajo	0,1 % a 1 %
Raro	< 0,1 %

(European Food Safety Authority –EFSA & Disease Prevention and Control- ECDC, 2013)

#### 2.2.12. Prueba de difusión por disco (Método de Kirby – Bauer)

El principio de esta prueba de difusión por disco ha sido usado por más de 70 años en laboratorios de microbiología, hasta que en 1966 se publicó el estudio de la prueba que se realiza en la actualidad. Los pasos básicos de esta prueba han sido adoptados por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2015), según el estudio hecho por Bauer, como referencia de la prueba de difusión por disco (OPS, 2009). La prueba necesita discos de antimicrobianos con una concentración ya determinada. Según los criterios recomendados por (CLSI 2015), el resultado se define de acuerdo a los puntos de corte descritos por la misma institución. Determinando el nivel de resistencia o sensibilidad de acuerdo al tamaño (medido en milímetros) del halo de inhibición que genere el antibiótico (Miles et al., 2006).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación, en cuanto al trabajo de campo, se realizó en fundos ganaderos del caserío de Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca y en cuanto al estudio bacteriológico, se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca

Cajamarca presenta las siguientes características climatológicas:

Altitud promedio:	2750 msnm.
Latitud sur:	7°10'36".
Longitud oeste:	78°30'36".
Temperatura promedio anual:	14.8 °C.
Temperatura mínima promedio anual:	7.0 °C.
Temperatura máxima promedio anual:	29.0 °C.
Precipitación pluvial:	801.8 mm.
Presión atmosférica:	750 milibares.
Humedad relativa promedio anual:	68,9 %.

---

(\*) Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) – Estación UNC. Cajamarca – 2017.

## 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

### 3.2.1. Material biológico

32 aislamientos de *Escherichia coli*. obtenidos a partir heces diarreicas de terneros en fundos de Tartar Grande.

### 3.2.2- Materiales de campo

- Mameluco
- Botas de jebe
- Guantes de diagnóstico
- Frascos de polietileno estériles, para muestras
- Bolsas de polietileno
- Plumones indelebles
- Formato para el registro de datos
- Tablero de campo
- Cámara fotográfica digital

### 3.2.3. Materiales y equipos de laboratorio

- Vernier o Regla
- Pinza punta plana
- Placas Petri estériles
- Hisopos de Algodón
- Tubos de tapa rosca de 10 ml
- Asa de siembra
- Algodón
- Alcohol
- Papel toalla
- Mechero
- Agua destilada
- Discos de sensibilidad antibiótica
- Estufa

- Incubadora
- Refrigeradora
- Autoclave

#### **3.2.4. Medios de cultivo**

- Agar MacConkey
- Agar Mueller Hinton
- Caldo peptonado 1 %

### **3.3 METODOLOGÍA**

#### **3.3.1. Delimitación de la zona de trabajo e identificación de los terneros con diarrea**

Lo primero que se realizó fue la delimitación de la zona de trabajo correspondiente al caserío Tartar Grande, la cual colinda con la zona urbana del distrito de Baños del Inca; habiéndose procedido a ubicar los ocho fundos ganaderos más importantes de acuerdo al mayor número de vacunos lecheros/propietario de dicha zona (ver Anexo 1). Habiéndose realizado las coordinaciones necesarias para mantener la comunicación con los responsables y así haber podido llevar a cabo visitas permanentes a fin de identificar a los terneros menores de un mes de edad que en ese momento se encontraban sufriendo de diarrea. Cabe señalar que, con la finalidad de homogenizar el número de muestras por fundo, se determinó que éstas sean en número de cuatro por establecimiento ganadero.

#### **3.3.2. Criterio de inclusión de los terneros**

Los terneros considerados para este estudio debieron ser menores de un mes, encontrarse con diarrea y no haber recibido ningún tratamiento antibacteriano.

### 3.3.3. Toma de muestras de heces

Los terneros con diarrea fueron secuencialmente muestreados por una sola vez, para lo cual el operador utilizando guantes de látex procedió a estimular la defecación introduciendo el dedo en el ano del ternero, suavemente. Las muestras de heces fueron recogidas en bolsas de polietileno, anotando la identificación del animal en la etiqueta respectiva.

### 3.3.4. Transporte de las muestras de heces

Las muestras de heces fueron colocadas en bolsas de polietileno de primer uso e inmediatamente transportadas en cajas de tecnopor con hielo, hacia el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

### 3.3.5. Aislamiento de *Escherichia coli*

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron sembradas en agar Mac Conkey por el método de estría y agotamiento según lo descrito en el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

### 3.3.6. Identificación de *Escherichia coli*

Se realizó la identificación fenotípica de las colonias de *Escherichia coli*. (Ver anexo 2) y se desarrolló una secuencia de pruebas bioquímicas que se incluye en el Kit: EnteroPluri-Test de Liofilchem, el cual es empleado a fin de confirmar que las colonias que desarrollaron en el cultivo primario son efectivamente de *Escherichia coli*. (ver anexo 3), luego se realizó la obtención de un cultivo puro de *Escherichia coli* en caldo peptonado al 1% al partir de cada uno de los aislamientos obtenidos.

### **3.3.7. Método para realizar el antibiograma**

El antibiograma se realizó siguiendo los procedimientos descritos en el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

#### **3.3.7.1. Preparación del Agar Mueller Hinton**

- Suspender 37 gr del medio deshidratado en un litro de agua destilada y dejar reposar de 10 a 15 minutos.
- Luego calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto.
- Autoclavar y dejar enfriar en baño de agua hasta que alcance los 45°C-50°C.
- Repartir el medio en placas petri de manera que el grosor de la placa sea 4 mm.
- Realizar pruebas de esterilidad incubando una o dos placas a 30°C - 35°C durante 24 horas.

#### **3.3.7.2. Inoculación**

De una placa de cultivo con agar MacConkey e incubada por 18 – 24 h a 37° se seleccionaron colonias aisladas e identificadas anteriormente, y luego se preparó una suspensión directa en caldo peptonado al 1%.

#### **3.3.7.3. Inoculación de placas**

Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión. Se hizo rotar varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.

A continuación, se inoculó en la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Se dejó secar a temperatura ambiente durante 3 – 5 minutos para evitar el exceso de humedad y se procedió a colocar los discos de sensibilidad.

### 3.3.7.4. Colocación de los discos

Los discos fueron colocados individualmente sobre la superficie del agar con ayuda de una pinza estéril, presionando levemente sobre cada disco para asegurar el contacto completo con la superficie del agar. Se distribuyeron los discos uniformemente, de modo que se encuentren a una distancia mínima de 25 mm uno del otro.

### 3.3.7.5. Incubación

Se llevó a incubación las placas en posición invertida a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.

### 3.3.7.6. Lectura de las placas e interpretación

Se realizó después de haber transcurrido entre 15 -18 horas de incubación.

Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco) usando una regla o vernier, manteniéndose iluminada la parte posterior de la placa petri con una luz reflejada sobre un fondo negro.

El punto final se tomó como la zona que no muestra crecimiento obvio, visible, que puede ser detectado al ser observado.

### 3.3.8. Interpretación de los diámetros.

**Cuadro 2.** Antibióticos y Diámetros Críticos para Enterobacterias.

Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro en mm	
		R	S
Sulfatrimetoprim	25 µg	≤10	≥16
Oxitetraciclina	30 µg	≤11	≥15
Enrofloxacino	5 µg	≤14	≥18
Neomicina	30 µg	≤12	≥17

R = Resistente, S = Sensible



### 3.4. ESTADÍSTICA

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva, frecuencias, porcentajes y prueba de Z.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

**Tabla 1.** Resistencia de *Escherichia coli* a antibióticos realizados en 32 aislamientos procedentes de heces de terneros con diarrea, mediante el método de disco difusión. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.

Antibiótico	Resultados de disco difusión			
	Resistente		Susceptible	
	N°	%	N°	%
<b>Oxitetraciclina</b>	13	40,6	19	59,37
<b>Neomicina</b>	12	37,5	20	62,5
<b>Enrofloxacino</b>	0	0,0	32	100,0
<b>Sulfa-Trimetoprim</b>	0	0,0	32	100,0

**Tabla 2.** Nivel de resistencia de aislamientos de *Escherichia coli*, de heces de terneros con diarrea, frente a cuatro antibióticos probados. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca. 2018.

Nivel de resistencia antimicrobiana EFSA y ECDC (1)	Antibiótico	Porcentaje de resistencia (%)
<b>Extra alto: &gt;70%</b>	--	--
<b>Muy alto: &gt;50% – 70%</b>		
<b>Alto: &gt;20% – 50%</b>	Oxitetraciclina	40,6
	Neomicina	37,5
<b>Moderado: &gt;10% – 20%</b>	--	--
<b>Bajo: &gt;1% – 10%</b>	--	--
<b>Muy bajo: &gt;0.1% – 1%</b>	--	--
<b>Raro: &lt;0.1%</b>	Enrofloxacino	0,0
	Neomicina	0,0

Categorías (Niveles) de resistencia antimicrobiana según la EFSA (European Food Safety Authority) y ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) 2013 según reporta Leite-Martins *et al.*, 2014.



## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

La resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos es uno de los graves problemas al que se enfrentan los profesionales veterinarios ya que el uso de los antibióticos en el tratamiento de infecciones, así como su empleo terapéutico, profiláctico y como promotor del crecimiento, está contribuyendo al incremento de la resistencia bacteriana (Hu et al., 2008; Laroche et al., 2009; Ram et al., 2009).

En este estudio los resultados que se presentan en la Tabla 1, muestran que del total de aislamientos de *E. coli* provenientes de heces de terneros con diarrea, el 40,6% (13/32) son resistentes a Oxitetraciclina y el 37,5% (12/32) son resistentes a la Neomicina, mientras que frente a Enrofloxacino y Sulfa-Trimetoprim el porcentaje de resistencia evaluada fue de 0% en todos los casos.

Los resultados para el caso de los antibióticos Oxitetraciclina y Neomicina cuya resistencia alcanzó los valores porcentuales de 40,6% y 37,5%, son categorizados en el nivel alto según la tabla de niveles de resistencia de la EFSA y ECDC, pero para Enrofloxacino y Sulfa-Trimetoprim la resistencia fue de cero.

Cabe indicar que, de acuerdo al criterio de inclusión considerado en el presente estudio, los terneros a quienes se les tomaron las muestras de heces, fueron menores de un mes de edad, presentaban diarrea y en ningún momento hubieron recibido tratamiento con antibióticos. Es por ello que los porcentajes de resistencia que se han encontrado, en cuanto se refiere a la Oxitetraciclina y a la Neomicina, deben ser como consecuencia de la ingestión de *Escherichia coli* resistente, proveniente de otros animales y que ya habrían adquirido resistencia; esto es muy probable que suceda desde el



mismo momento del nacimiento, cuando el ternero toma contacto con las heces de su propia madre o de otras especies animales, tal como se menciona en publicaciones sobre este tema (Thrusfield, 2005; Alexander et al., 2008; Gow et al., 2008; Werckenthin et al., 2012)

La aparición de cepas resistentes a los antimicrobianos pone en riesgo la salud animal y humana, ya que las bacterias pueden transferir sus genes de resistencia, pudiendo conducir a una enfermedad difícil de tratar; lo cual se considera como un riesgo alto para la salud pública, y haciéndose necesario de realizar la vigilancia permanente del uso de los antibióticos en la ganadería (Rodríguez, 2002).

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

- La resistencia de *Escherichia coli* aislada de heces de terneros con diarrea, mediante la prueba de disco difusión fue de 40,6% para Oxitetraciclina y 37,5% para Neomicina, sin embargo, frente a Enrofloxacino y Sulfa-Trimetoprim el porcentaje de resistencia fue cero.
- Los niveles de resistencia de *Escherichia coli* aislada de heces de terneros con diarrea, mediante disco difusión teniendo según los niveles internacionales (EFSA y ECDC, 2013) son altos para el caso de la Oxitetraciclina (40,6%) y la Neomicina (37,5%), mientras que para Enrofloxacino y Sulfa-Trimetoprim no hubo ningún caso de resistencia.



## CAPÍTULO VII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acres, S. 1985. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in newborn calves: a review. *Journal Dairy Science*. 68(1):229–56.

Agurto, T. 2009. Microbiología Bioquímica Bacteriana Enterobacteriaceae. 1a ed. Perú. Universidad Ricardo Palma. Facultad de Ciencias Biológicas 54, 61, 64: 131-132.

Alexander, T., Yanke, L., Topp, E., Olson, M., Read, R., Morck, D. 2008. Effect of subtherapeutic administration of antibiotics on the prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria in feedlot cattle. *Appl Environ Microbiol*. 74:4405-4416.

Al-Majali, A., Asem, E., Lamar, C. 2000. Studies on the mechanism of diarrhoea induced by *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin (STa) in newborn calves. *Vet Res Commun*. 24(5):327–38.

Alós, J. 2015. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global, *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. Elsevier, Vol 33(10) 692-6

Berge, A., Moore D and Sicho W. 2006. Field Trial Evaluating the Influence of Prophylactic and Therapeutic Antimicrobial Administration on Antimicrobial Resistance of Fecal *Escherichia coli* in Dairy Calves. *Applied and Environmental Microbiology*. 3872–3878

Botana, L. 2002. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. España. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana 324-342.



Catry B, Laevens H, Devriese LA, Opsomer G, De Kruif A. 2003. Antimicrobial resistance in livestock. *Journal Veterinary Pharmacology and Therapeutic*. 26:81-93.

Constable, P. 2009. Treatment of calf diarrhea: Antimicrobial and ancillary treatments. *Veterinary Clinical Food Animal*. 25:101-120.

Croxen, M., Law, R., Scholz, R., Keeney, M., Wlodarska, M., Finlay, B. 2013. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* p. 822– 880

Daza, R. 2004. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Buenos Aires (Argentina). *Inf Ter Sist Nac Salud* 22(3): 57-67.

De Toro, M., Sáenz, Y., Cercenado, E., Rojo-Bezares, B., GarcíaCampello, M., Undabeitia, E. 2011. Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in *Salmonella enterica* from three Spanish hospitals. *Int Microbiol*. 14:173-181.

Elliot, T. 1999. Antibacterial resistance in the intensive care unit. Mechanisms and management *Br Med Bull*. 55(1):259-76.

Foster, D and Smith, G. 2009. Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *Veterinary Clinical Food Animal*. 25: 13-36.

García, S., Calderón, B., Martínez, W. 2010. Resistencia antimicrobiana de los principales agentes etiológicos de las infecciones del tracto urinario. *COCMED* 14 (4): 1-11

Guerra, B. 2000. Antimicrobial resistance and spread of class 1 - Integrons among *Salmonella* Serotipes. *Antimicrob Agent Chemother* 44(8): 2166-2169.

Gyles, C and Fairbrother, J. 2010. *Escherichia coli* en: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Fourth Edition. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, pág. 643.

Gow, S., Waldner, C., Rajic, A., McFall, M., Reid-Smith, R. 2008. Prevalence of antimicrobial resistance in fecal generic *Escherichia coli* isolated in western Canadian cow-calf herds. Part I - Beef calves. Can J Vet Res. 72:82-90.

Hart, C. 1998. La resistencia a los antibióticos. ¿un problema creciente? Br Med J (Ed Latinoam) 6:147-8.

Harwell, J., Brown, R. 2000. The drug-resistance Pneumococcus. Clinical relevance, therapy and prevention. Chest. 117(2):530-41.

Hedberg, M. 1996. Beta-Lactam resistance in anaerobic bacteria. A. review. J Chemother. 8(1):3-16.

Inglis, J. 1960. The relationship of husbandry to calfscours: a review. Vet. Rec. 72: 1174-1177.

Hu, J., Shi, J., Chang, H., Li, D., Yang, M., Kamagata, Y. 2008. Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a natural river basin. Environ. Sci. Technol 42(6): 3415–3420.

Lay, M. 1994. Bacterial resistance in the 90s. Contemp Pediatr. 11 (4):72-99.

Laroche, E., Pawlak, B., Berthe, T., Skurnik, D., Petit, F. 2009. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli* isolated from a densely populated estuary (Seine, France). FEMS Microbiol Ecol. 68(5): 118–130.

Lim, J.Y., Yoon, J. W., & Hovde, C. J. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its plasmid O157. Journal of microbiology and biotechnology, 20(1), 1-10.

Loosmore, R. 1964. Symposium on calf diseases: epidemiology. Vet. Rec. 76: 1335-1348.

Mandell, G., Bennett, J. 2005. Principles and practice of infectious diseases. 2: 2567-2586.

Margueritte, J., Mattion, N. y Blackhall, J., Fernández, F., Parreño, V. y Vagnozzi, A., Odeón, A., Combessies, G. 2005. Diarrea neonatal en terneros de rodeos de cría: su prevención y tratamiento. Disponible en: [http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/destete/34diarrea\\_neonatal\\_en\\_terneros.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/destete/34diarrea_neonatal_en_terneros.pdf)

Margueritte, J., Fumuso, E., González, C., Becaluba, M., Biagioni, R., Confalonieri, O. 2001. Diarreas neonatales en terneros de rodeos de cría. Revista Veterinaria de Argentina. 177:517-533.

Moredo, F., Vigo, G., Cappuccio, J., Piñeyro, P., Perfumo, C., Giacoboni, G. 2007. Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos de la República Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 39:227- 229.

Moon, H., Whip, S., Skarvedt, S. 1976. Etiologic diagnosis of diarral diseases of calves, frequency and methods for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *Escherichia coli*. American Journal Veterinary Research. 37: 1025 – 1029.

Myers, LL., Guinee, P. 1976. Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea. Infect Immun.13(4): 1117–9.

Murray ,P., Rosenthal, K., Pfaller, M. 2006. Microbiología Médica 5ta ed. España: Elsevier 326-328.

Nataro, JP y Kaper, JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews, 11:142–201.



O'Connor, DR. 2002. Report of the Walkerton Inquiry: The events of May 2000 and related issues. Part 1: A summary. Toronto, Ontario (Canadá), Ontario Ministry of the Attorney General, Queen's Printer for Ontario.

OMS. Organización Mundial de la Salud. 1997. The medical impact of the use of antimicrobial in food animals. Berlin, Germany, 13-17

OMS. Organización Mundial de la Salud. 2000. Overcoming antimicrobial resistance. World Health Organization. Report on Infectious Diseases. Geneve, Switzerland. 67 p.

Pohl, P., Lintermans, P., Kackenbeeck, A., Van Muylen, K., Schicker Chr. 1984. Corrélationn entre la production de antigéne K99 et celle de léntérptoxine STI chez les colibacilles du veau. Ann. Med. Vét. 128: 119 – 124.

Plumb, D. 2006. Manual de Farmacología Veterinaria. Sexta Edición. España. Editorial intermédica.

Quinn, PJ. 2002. Veterinary microbiology and microbial disease. Oxford; Maiden, MA: Blackwell Science 8: 536-537.

Rodríguez, G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex 44: 464-476.

San Martín, B., Bravo, V., Borie C. 2005. Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando *Escherichia coli* como bacteria indicadora. Arch Med Vet. 37(2): 20-26.

Scheutz, F., Strockbine, N., Genus, I. 2005. *Escherichia coli*. In: Brenner, D.J., et al. (Eds.) The Protebacteria Part B the Gamma proteobacteria. Springer 2(2): 607-623.

Starr, M. P. 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. By William H. Ewing. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York. 1986.



536 pages. ISBN 0-444-00981-7. International Journal of Systematic Bacteriology, 36(4), 581-582.

Souza, V., Castillo, A., Rocha, M., Sandner, L., Silva, C., Eguiarte, L. 2001. Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. INCI 26(10): 1-14.

Spetter, J., Louge, E., González, R., Malena, R y Moreira, A. 2015. Estudio retrospectivo de multirresistencia antimicrobiana en aislamientos de *Escherichia coli* de terneros con diarrea neonatal. Revista de Medicina Veterinaria. 96(2):4-9

Sumano, H. 2006. Farmacología Veterinaria. 3era Edición. México. Editorial Mc. Graw Hill.

Torres, M. E., Pirez, M. C., Schelotto, F., Varela, G., Parodi, V., Allende, F., & Ingold, E. 2001. Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates. Journal of clinical microbiology, 39(6), 2134-2139.

Thrusfield, M. 2005. Chapter 13: Surveys. En: Veterinary Epidemiology, 3rd ed. Blackwell Science Ltd. p. 228- 246.

Van den Bogaard, A. and Stobberingh, E. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International journal of antimicrobial agents*, 14(4), Pàg.327–335.

Werckenthin, C., Seid, S., Ried, J., Kiossis, E., Wolf, G., Stolla, R. 2002. *Escherichia coli* isolates from young calves in Bavaria: in vitro susceptibilities to 14 antimicrobial agents. J Vet Med. 49:61-65.

Wray, C; Thomlinson, J. 1975. Factors influencing occurrence of colibacillosis in calves. Vet. Rec. 96: 52-56.



# ANEXOS

**Anexo 1.** Mapa de la zona de trabajo y ubicación de los puntos de muestreo. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca. 2018.





## Anexo 2

### Preparación de medio cultivo agar MacConkey

- Se suspende 50 g de agar en 1 litro de agua destilada. Mezclamos bien.
- En un mechero calentamos la solución agitando frecuentemente y hervir durante 1 min para disolver.
- Esterilizar a 121° C por 15 minutos.

### Siembra de muestras por estría y agotamiento

- Este procedimiento fue utilizado porque se logra conseguir una buena separación de las colonias y aislarlas fácilmente.
- Se toma el asa de siembra se esteriliza en la flama del mechero, luego se toma una pequeña muestra de heces y se coloca el inculo en una esquina de la placa y luego se desliza sobre la superficie del medio formando estrías en 3 series.

### Identificación de *Escherichia coli* por coloración de Gram

- Se prepara una extensión en una lámina portaobjetos, dejando secar al medio ambiente.
- Cubrimos la muestra con cristal violeta en su totalidad, esperamos 2 minutos.
- Se lava con agua destilada.
- Cubrimos la muestra con lugol cubriendo toda la muestra, esperamos 2 minutos.
- Se lava con agua destilada
- Decoloramos la muestra con decolorante alcohol acetona de 1-3 veces.
- Cubrimos la muestra con safranina, esperamos 1 min.
- Se lava con agua destilada y se deja secar.



- Colocamos a la extensión 1 gota de aceite de cedro y observamos al microscopio con el objetivo de inmersión.

## Anexo 3

### A- ENTEROPLURI- TEST

Es un sistema de 12 sectores que contienen terrenos de cultivo especiales que permiten identificar enterobacterias como bacterias gram negativas, oxidasa negativa. El sistema permite inocular simultáneamente todos los cultivos presentes en los sectores y ejecutar 15 reacciones bioquímicas a la vez. El microorganismo se identifica evaluando el color en los distintos medios de cultivo después de 18 a 24 horas de incubación a 37°C y mediante codificación numérica que se obtiene con la interpretación.

### B- PRODUCTOS NECESARIOS PARA UTILIZAR EL KIT

- Kovacs Reagente
- Enteropluritest –Manual de códigos
- Oxidasa bastoncitos de algodón
- VP Test EP

## C- CONFIGURACIÓN

El sistema presenta la configuración

**Cuadro 3.** Sectores de los diferentes terrenos de cultivo de Enteropluritest.

SECTORES	REACCIÓN BIOQUÍMICA
Glucosa/ gas	Fermentación de la glucosa y producción de gas en anaerobiosis.
Lisina	Descarboxilación de la lisina en anaerobiosis.
Ornitina	Descarboxilación de la ornitina en anaerobiosis
H <sub>2</sub> S /H <sub>2</sub> INDOL	Producción de hidrógeno sulfurado y producción de indol.
Adonitol	Fermentación del adonitol
Lactosa	Fermentación de la lactosa
Arabinosa	Fermentación de la arabinosa.
Sorbitol	Fermentación del sorbitol
VP	Producción de acetólina (Voges-Proskauer)
Dulcitol/PA	Fermentación del dulcitol y deaminación de la fenilalanina.
Urea	Hidrólisis de la urea
Citrato	Utilización del citrato

## D- PROCEDIMIENTO DEL TEST

- El microorganismo a identificar tiene que ser de cultivos recientes entre 18 -24 horas. Antes de proceder a sembrar el microorganismo se realiza la coloración de gram y el test de la oxidasa; solo las bacterias gramnegativas y oxidasa negativa pueden sembrarse en Enteropluritest.
- Desenroscamos ambas tapas del sistema y utilizando la punta de inoculación tomamos una colonia bien aislada del agar.
- Inoculamos girando el hilo y extrayéndolo a través de todos los sectores del sistema.
- Reintroducimos el hilo con movimientos giratorios hasta la muesca de rotura, rompemos el hilo de inoculación. La parte del hilo que queda dentro del sistema mantiene el ambiente anaerobio para los compartimientos Glucosa/gas, lisina y ornitina.
- Con el hilo que queda roto le hacemos un orificio a los sectores: adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol, VP, dulcitol/PA, urea, citrato para mantener un ambiente aerobio.
- Enroscamos ambas tapas e incubamos a 37°C durante 18 horas colocando verticalmente el Enteropluritest.

## E- INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**Cuadro 4.** Distintos sectores al finalizar la incubación para interpretación de resultados.

SECTORES	REACCIÓN BIOQUÍMICA	COLOR SECTOR	
		REACCIÓN POSITIVA	REACCIÓN NEGATIVA
<b>Glucosa/ gas</b>	Fermentación de la glucosa y producción de gas en anaerobiosis.	Amarillo	Rojo
<b>Lisina</b>	Descarboxilación de la lisina en anaerobiosis.	Cera suelta	Cera adherida
<b>Ornitina</b>	Descarboxilación de la ornitina en anaerobiosis	Violeta	Amarillo
<b>H<sub>2</sub>S /H<sub>2</sub> INDOL</b>	Producción de hidrógeno sulfurado	Negro-marrón	Beige
	producción de indol	Rosa-rojo	Incoloro
<b>Adonitol</b>	Fermentación del adonitol	Amarillo	Rojo
<b>Lactosa</b>	Fermentación de la lactosa	Amarillo	Rojo
<b>Arabinosa</b>	Fermentación de la arabinosa.	Amarillo	Rojo
<b>Sorbitol</b>	Fermentación del sorbitol	Amarillo	Rojo
<b>VP</b>	Producción de acetoína (Voges- Proskauer)	Rojo	Incoloro
<b>Dulcitol/PA</b>	Fermentación del dulcitol	Amarillo	Verde
	Deaminación de la fenilalanina.	Marrón oscuro	Verde
<b>Urea</b>	Hidrólisis de la urea	Purpura	Beige
<b>Citrato</b>	Utilización del citrato	Azul	Verde

## Formación de códigos. VP Test

Los 15 test bioquímicos se dividen en 5 grupos que contiene el test y cada test indica un valor de positividad 4, 2, 1.

- Valor 4: primer test positivo de cada grupo: glucosa, ornitina. adonitol, sorbitol, PA.
- Valor 2: segundo test positivo de cada grupo: gas, H<sub>2</sub>S, lactosa, VP, urea.
- Valor 1: tercer test positivo de cada grupo: lisina, indol, arabinosa, dulcitol, citrato.
- Valor 0: cada test negativo.

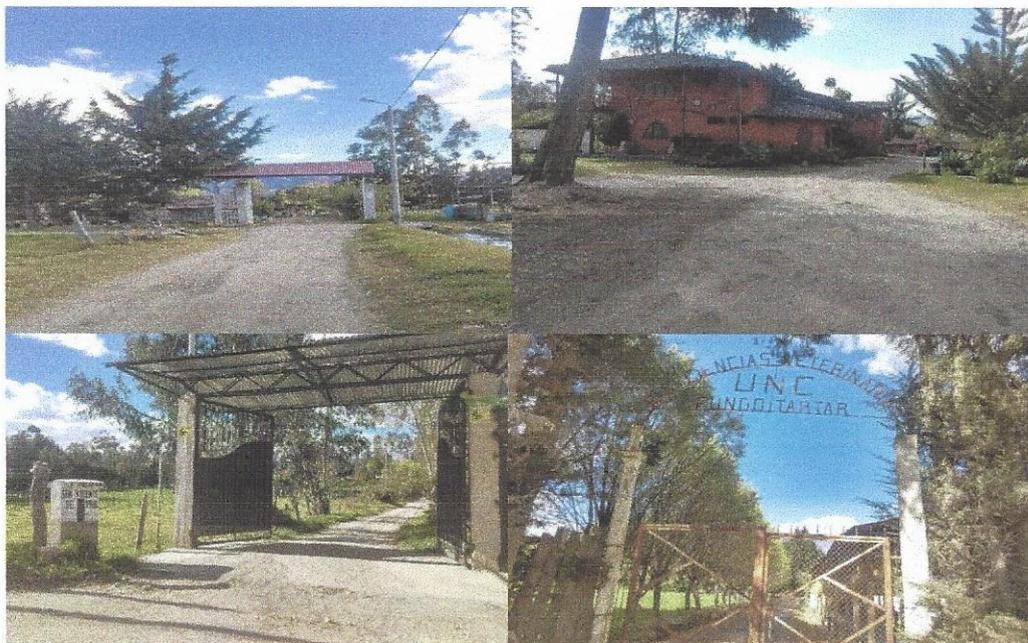
Sumando en cada grupo los números de las reacciones positivas, se obtiene un código de 5 cifras, que utilizando el manual de códigos nos permitirá identificar el microorganismo.

## Anexo 5.

**Tabla 3.** Resultados generales del EnteroPluri-Test, en 32 muestras de heces procedentes igual número de terneros con diarrea. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca. 2018.

<b>N° muestra</b>	<b>Código</b>	<b>Microorganismo</b>	<b>Atypical Tests</b>
1	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
2	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
3	75350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
4	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
5	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
6	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
7	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
8	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
9	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
10	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
11	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
12	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
13	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
14	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
15	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
16	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
17	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
18	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
19	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
20	61740	<i>Escherichia coli</i>	ATYPICAL
21	71350	<i>Escherichia coli</i>	NONE
22	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
23	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
24	51340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
25	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
26	51340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
27	61340	<i>Escherichia coli</i>	ATYPICAL
28	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
29	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
30	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
31	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE
32	71340	<i>Escherichia coli</i>	NONE

**Anexo 6: Panel fotográfico:**



Fotografía 1. Vista exterior de algunos fundos muestreados ubicados en la zona de Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.



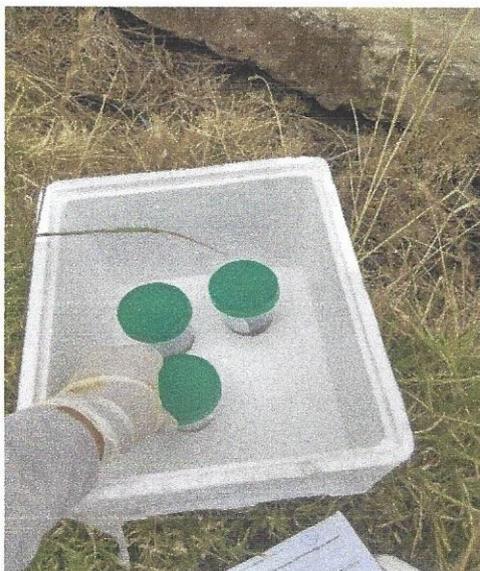
Fotografía 2. Toma de datos referidos al sistema de crianza en terneros en fundos procedentes de Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.



Fotografía 3. Toma de muestras de heces en casos de terneros con diarrea, procedentes de Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.



Fotografía 4. Muestra de heces en envase estéril, con los datos que identifican al ternero muestreado. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018



Fotografía 5. Frascos conteniendo las muestras de heces colocados en la caja de Tecnopor, para su transporte al Laboratorio. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.



Fotografía 6. Transportando las muestras de heces en cajas térmicas, para su análisis de laboratorio. Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, 2018.



Fotografía 7. Caja térmica con los frascos conteniendo las muestras de heces llegadas al Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Cajamarca, 2018.



Fotografía 8. Frascos conteniendo muestras de heces, listas para ser procesadas en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Cajamarca, 2018.



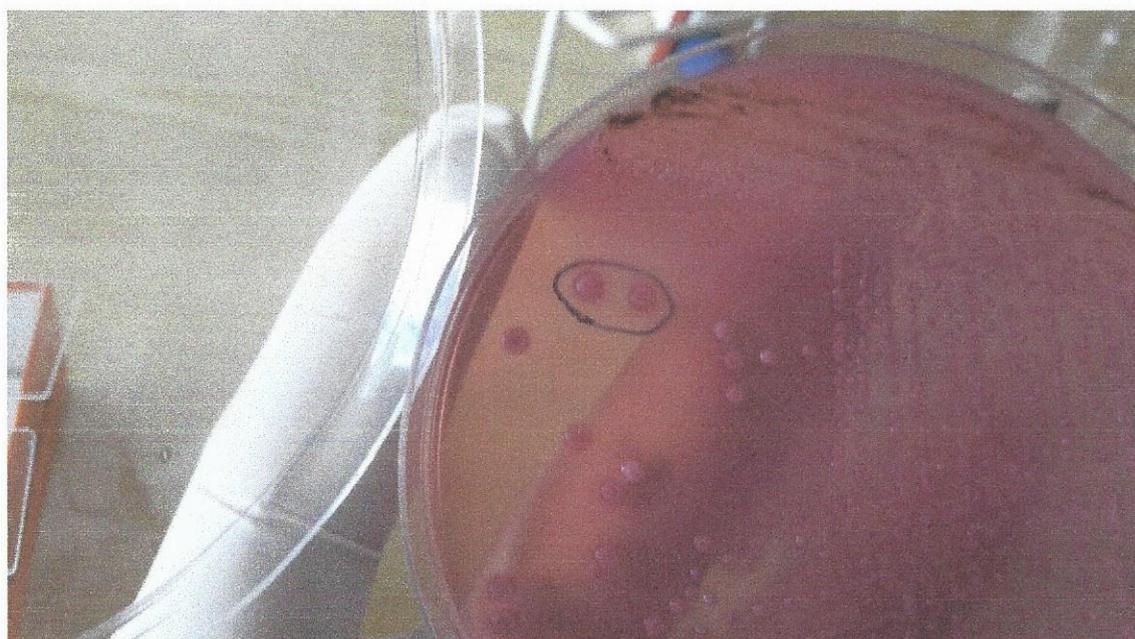
Fotografía 9. Placas de Agar Mac Conkey MUG, con las muestras de heces e incubadas, con los resultados iniciales obtenidos. En todos los casos se puede observar colonias lactosa positivas.



Fotografía 10. Tiras de papel para realizar la prueba de la Oxidasa.



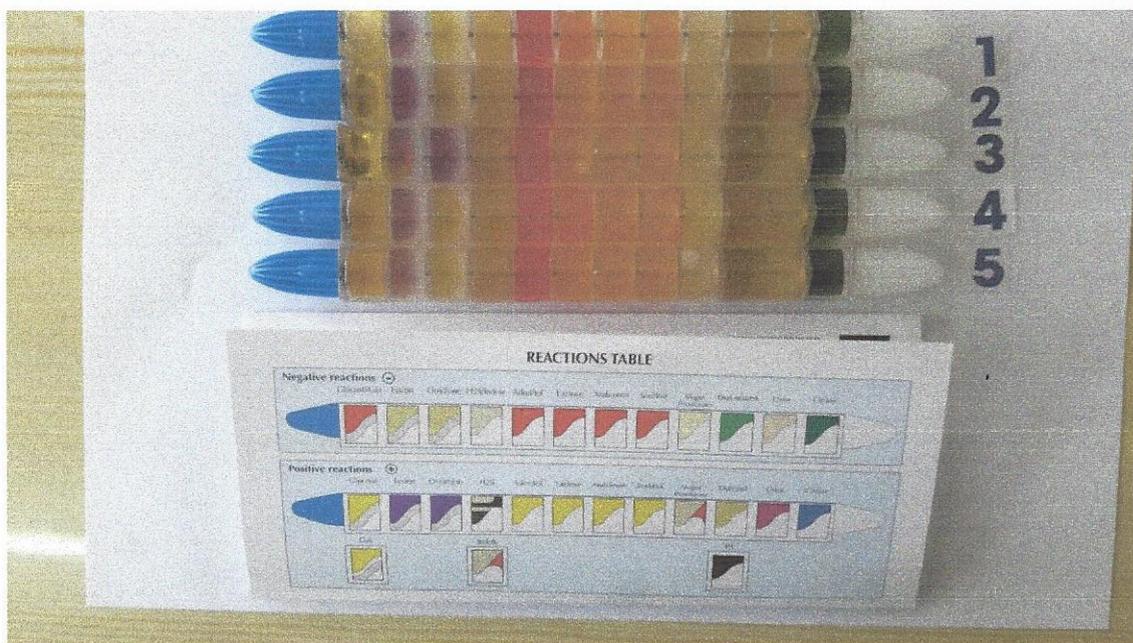
Fotografía 11. Set para realizar el EnteroPluri—Test.



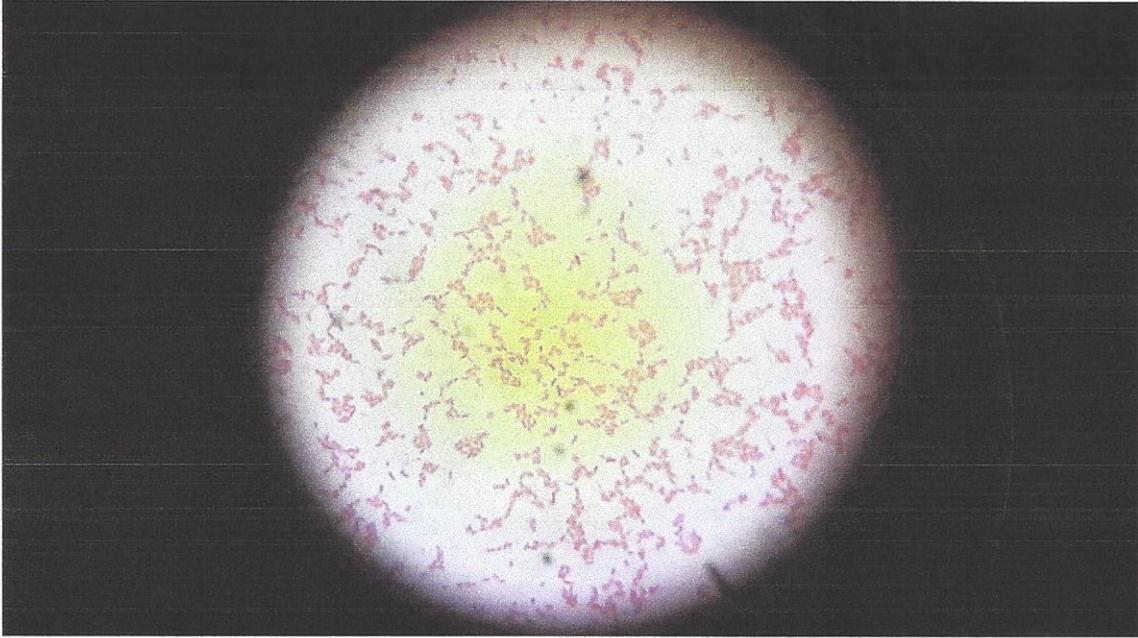
Fotografía 12. Colonias típicas de *Escherichia coli* identificadas fenotípicamente, seleccionadas para su confirmación mediante el EnteroPluri-Test.



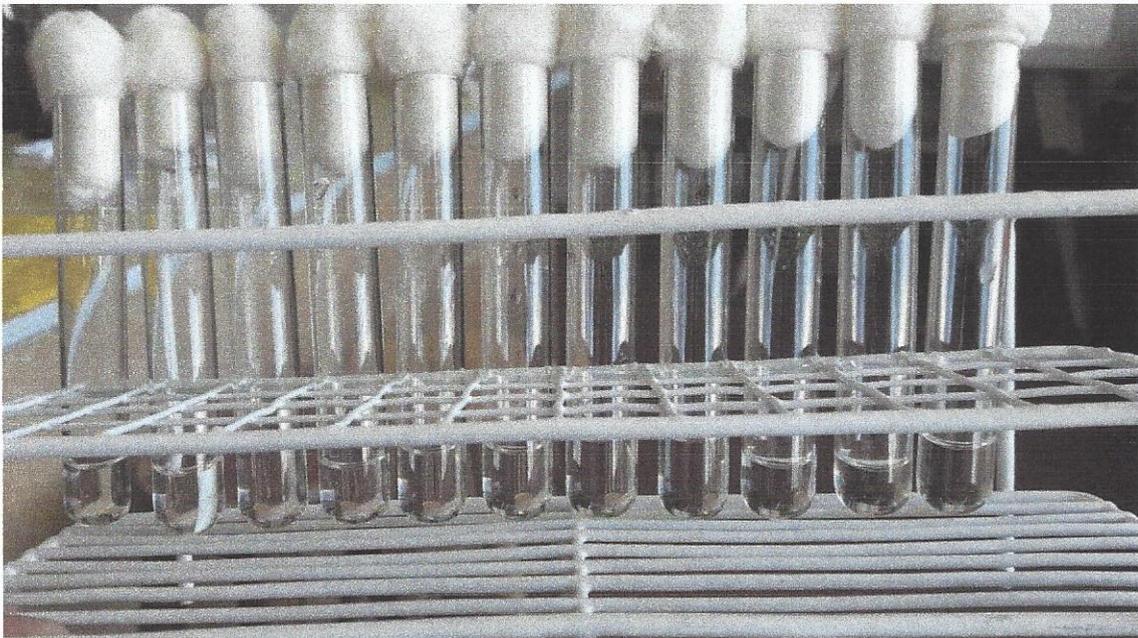
Fotografía 13. Procediendo a realizar la siembra de las colonias de *Escherichia coli*, identificadas fenotípicamente, para llevar a cabo el EnteroPluri-Test.



Fotografía 14. Resultados del EnteroPluri-Test y tablas para realizar la lectura.



Fotografía 15. Imagen de *Escherichia coli* en coloración Gram, a partir del cultivo en Agar Mac Conkey MUG.



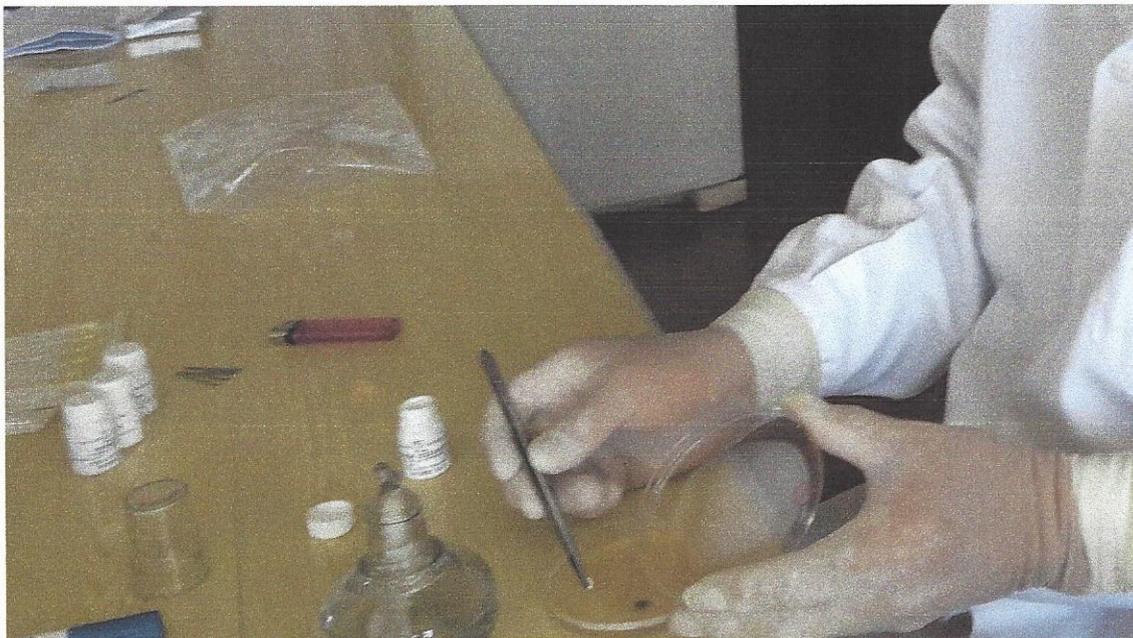
Fotografía 16. Caldo peptonado, para preparar cultivo puro de los aislamientos de *Escherichia coli*, a partir de los cuales se realizará el antibiograma.



Fotografía 17. Toma de muestra del cultivo puro en caldo peptonado, mediante un hisopo estéril.



Fotografía 18. Siembra del cultivo puro de *Escherichia coli* en Agar Mueller Hinton.



Fotografía 19. Colocación de los discos de sensibilidad en la superficie de Agar Mueller Hinton recién sembrado con *Escherichia coli*, para verificar la posible resistencia bacteriana.



Fotografía 20. Placa de Agar Mueller Hinton, con resultados del antibiograma.

## Anexo 7. Estadística

### Oxitetraciclina

Hipótesis Nula: *Escherichia coli* no es resistente a la Oxitetraciclina en terneros con diarrea en Tartar Grande- Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

Hipótesis Alternativa: *Escherichia coli* es resistente a la Oxitetraciclina en terneros con diarrea en Tartar Grande- Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

$$H_0: <0,20 \quad H_a: \geq 0,20$$

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$  = proporción de la muestra

$p_0$  = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$  = desviación estándar de la proporción

$$Z = 2.91$$

El valor de Z (2,91) es mayor que el valor de Z de la tabla al 95% (1,96), por lo tanto, rechazo la hipótesis nula y concluyo que *Escherichia coli* es resistente a la Oxitetraciclina en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

## Neomicina

Hipótesis Nula: *Escherichia coli* no es resistente a la Neomicina en terneros con diarrea en Tartar Grande- Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

Hipótesis Alternativa: *Escherichia coli* es resistente a la Neomicina en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

$$H_0: <0,20 \quad H_a: \geq 0,20$$

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$  = proporción de la muestra

$p_0$  = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$  = desviación estándar de la proporción

$$Z = 2,47$$

El valor de Z (2,47) es mayor que el valor de Z de la tabla al 95% (1,96), por lo tanto, rechazo la hipótesis nula y concluyo que *Escherichia coli* es resistente a la Neomicina en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

## Enrofloxacino

Hipótesis Nula: *Escherichia coli* no es resistente a Enrofloxacino en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%

Hipótesis Alternativa: *Escherichia coli* es resistente a Enrofloxacino en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%

Ho:  $<0,20$     Ha:  $\geq 0,20$

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$  = proporción de la muestra

$p_0$  = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$  = desviación estándar de la proporción

Z = -2,8

El valor de Z (-2,8) es menor que el valor de Z de la tabla al 95% (1,96), por lo tanto, acepto la hipótesis nula y concluyo que *Escherichia coli* no es resistente a Enrofloxacino en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

## Sulfa-Trimetroprim

Hipotesis Nula: *Escherichia coli* no es resistente a Sulfa-Trimetroprim en terneros con diarrea en Tartar Grande- Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

Hipotesis Alternativa: *Escherichia coli* es resistente a Sulfa-Trimetroprim en terneros con diarrea en Tartar Grande- Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%.

Ho: <0,20    Ha: ≥0,20

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$  = proporción de la muestra

$p_0$  = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$  = desviación estándar de la proporción

Z = -2,8

El valor de Z (-2,8) es menor que el valor de Z de la tabla al 95% (1,96), por lo tanto, acepto la hipótesis nula y concluyo que *Escherichia coli* no es resistente a Sulfa-Trimetroprim en terneros con diarrea en Tartar Grande-Baños del Inca-Cajamarca, cuyo nivel es mayor al 20-50%