

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN *Cavia porcellus* EN
HUACHI GRANDE”

Trabajo de investigación previo a la obtención de grado de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Autor:

ROBERTO ESTALIN BENAVIDES PAREDES

Tutor:

DR. PEDRO DIAZ, Mg.

Cevallos-Tungurahua-Ecuador, 2018

“Yo Roberto Estalin Benavides Paredes, portador de la cedula de identidad 1804932430, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN *Cavia porcellus* EN HUACHI GRANDE” es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”

Roberto Estalin Benavides Paredes

1804932430

Al presentar este informe final del Proyecto de Investigación titulado “CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN *Cavia porcellus* EN HUACHI GRANDE” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo a que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizó a la Universidad técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o parte de él.

Roberto Estalin Benavides Paredes

1804932430

“CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN *Cavia porcellus* EN
HUACHI GRANDE”

REVISADO POR:

Dr. Pedro Diaz, Mg

TUTOR

Dr. Gerardo Kelly, Mg

ASESOR DE BIOMETRIA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

Ing. Hernán Zurita Vásquez, Mg.

Presidente del Tribunal

FECHA

Dr. Roberto Almeida, Mg.

Miembro del Tribunal de Calificación

FECHA

Dra. Mayra Montero, Mg

Miembro del Tribunal de Calificación

FECHA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de vivir, luchar por alcanzar uno de mis sueños, y por darme cada día la oportunidad de cambiar corregir mis errores y ser mejor persona.

A mi madre que estuvo en los momentos que más necesite y me guio para ser mejor persona, me dio ánimos y apoyo para cumplir uno de mis sueños.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, por brindarme conocimientos necesarios para ser mejor profesional.

A los distinguidos profesores que están a cargo de mi tesis y por estar en esos momentos que más necesite.

A la Dra. Mayra Montero por su apoyo y dedicación en cada paso de este proyecto.

A todas las personas y amigos que estuvieron brindando consejos, y ánimos para salir adelante.

GRACIAS

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con todo cariño y amor para mi querida Madre Inés Benavides que fue la persona más importante para mí, puesto que es padre y madre, me guio siempre en el camino del bien dándome consejos, apoyo económico y moral para culminar uno de mis sueños.

GRACIAS

ÍNDICE

CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO II.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	3
2.2 CATEGORIAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL.....	10
Pruebas para la confirmación de enterobacterias.....	10
2.2.1. Agar MacConkey.....	10
2.2.2. Fundamento.....	10
2.2.3. Uso.....	11
2.2.4 Preparación.....	11
2.2.5. Colonias típicas.....	11
Elementos.....	11
Identificadores.....	11
2.3. Caldo Cerebro Corazón.....	12
2.3.1. Uso.....	12
2.3.2. Fundamento.....	12
2.3.3. Preparación.....	12
2.4.1. Sistema Microgen.....	12
2.4.2. Uso.....	13
2.4.3. Principio de la prueba.....	13
2.4.4. Advertencia y precaución.....	13
2.4.5. Procedimiento inoculación e incubaciones.....	14
2.4.6. Lectura y adición.....	15
2.5.1. Enterobacterias.....	15

2.5.2. <i>Salmonella spp.</i>	16
2.5.3. Clasificación taxonómica	16
2.5.4 Epidemiología de Salmonelosis	17
2.5.5. Manifestaciones clínicas.....	17
2.6. <i>Escherichia coli</i>	17
2.6.1. Clasificación taxonómica	17
2.6.2. Manifestaciones Clínicas.....	18
2.7. <i>Klebsiella</i>	18
2.7.1. Clasificación	18
2.7.2. Manifestación clínica	19
2.8 UNIDAD DE ANALISIS	19
2.8.1. Cuy (<i>Cavia porcellus</i>)	19
2.8.2. Clasificación taxonómica	20
2.8.3. Características anatómicas y morfológicas	20
2.8.4. Características reproductivas.....	20
2.8.5. Principales hábitos.....	21
2.8.6. Alimentación	21
CAPITULO III.....	22
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	22
3.1. HIPÓTESIS	22
3.2. OBJETIVOS.....	22
CAPITULO IV.....	23
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	23
4.2. CARACTERISTICAS DEL LUGAR	24
4.3. EQUIPOS Y MATERIALES	24
4.5. FACTORES EN ESTUDIO	25
4.6. TRATAMIENTO	25

4.7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
4.8 VARIABLE RESPUESTA	26
TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	26
Cálculo del tamaño de la muestra.....	26
Lugar de la muestra	32
4.8.3. Caldo Cerebro Corazón	32
4.8.4. Preparación Agar MacConkey	32
4.8.5. Necropsia.....	33
4.8.6. Siembra Agar MacConkey	33
4.8.7. Tinción Gram	33
4.8.8. Sistema Microgen.....	34
4.8.9. Lectura y adición de reactivos del sistema microgen GN A	34
4.9. Identificación.....	34
CAPITULO V	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
5.1. Resultados	36
5.2 DISCUSIÓN.....	38
CAPITULO VI.....	40
CONCLUSIONES BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS	40
6.1 CONCLUSIONES.....	40
6.2 BIBLIOGRAFIA.....	41
6.3 ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Colonias típicas	11
Tabla 2. Taxonomía de <i>Salmonella</i>	16
Tabla 3. Taxonomía de <i>Escherichia coli</i>	18
Tabla 4. Clasificación taxonómica del cuy (<i>Cavia porcellus</i>)	20
Tabla 5. Características del cuy	20
Tabla 6. Condiciones geográficas	24
Tabla 7. Aislamiento bacteriano.....	36
Tabla 8. Tipificación de géneros bacterianos.....	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Localización de las muestras del estudio	23
Gráfico 2. Hoja de resultados	35
Gráfico 3. Interpretación de resultados	35
Gráfico 4. Tinción Gram.....	36
Gráfico 5. Muestras positivas.....	37
Gráfico 6. Porcentaje de bacterias presentes	47
Gráfico 7. Tipificación de <i>Salmonella</i>	47
Gráfico 8. Tipificación de <i>Klebsiella</i>	48
Gráfico 9. Medio para el crecimiento y el aislamiento de bacterias	48
Gráfico 10. Necropsia del cuy (<i>Cavia porcellus</i>).....	49
Gráfico 11. Tipificación de bacteria, <i>Salmonella</i>	49
Gráfico 12. Tipificación de bacterias, <i>Salmonella typhimurium</i>	50
Gráfico 13. Tipificación de bacterias, <i>Escherichia coli</i>	50
Gráfico 14. Tipificación de bacterias, <i>Klebsiella ozaenae</i>	51
Gráfico 15. Muestras aisladas y tipificadas.....	51

RESUMEN

El trabajo de investigación titulado “Caracterización de enterobacterias en *Cavia porcellus* en Huchi Grande”, tuvo como objetivos caracterizar y tipificar enterobacterias en *Cavia porcellus*. Se analizaron 119 muestras procedentes de la asociación (COMPRACUY) perteneciente al cantón Ambato provincia de Tungurahua; tomadas al azar, sin considerar sexo ni edades, el aislamiento de las cepas se realizó mediante siembra en agar MacConkey a partir de un pool de hígado y pulmón. Como resultado del experimento se obtuvieron 46 muestras positivas a enterobacterias, que fueron caracterizadas mediante tinción Gram, finalmente se las tipificó mediante el sistema microgen GN A, obteniéndose los siguientes resultados: *E. Coli* 41% *Salmonella typhimurium* 20 %, *Klebsiella pneumoniae* 15 %, *Salmonella spp* 11 %, *Klebsiella ozaenae* 9 %, *Klebsiella oxytoca* 4 %. Se concluye que solamente el 38,6 % de las muestras tomadas presentaron aislamientos bacterianos en el pool de órganos de necropsia

Palabras claves: Enterobacterias; *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*; Microgen GN A, MacConkey

SUMMARY

The research work entitled "Characterization of enterobacteria in *Cavia porcellus* in Huchi Grande", aimed to characterize and typify enterobacteria in *Cavia porcellus*. We analyzed 119 samples from the association (COMPRACUY) belonging to the canton Ambato province of Tungurahua; taken randomly without considering sex or ages, the isolation of the strains was carried out by sowing in MacConkey agar from a pool of liver and lung. Because of the experiment, 46 positive samples were obtained from Enterobacteriaceae, which were characterized by Gram stain, finally they were typed by means of the GN A microgen system, obtaining the following results: *E. Coli* 41%, *Salmonella typhimurium* 20%, *Klebsiella pneumoniae* 15%, *Salmonella* spp 11%, *Klebsiella ozaenae* 9%, *Klebsiella oxytoca* 4%. It is concluded that only 38.6% of the samples taken had bacterial isolates in the necropsy organ pool

Key Word: Enterobacterias; *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*; Microgen GN A, MacConkey

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

El cuy (*Cavia porcellus*) es un roedor originario de los Andes, utilizado como alimento en una extensa región comprendida por Bolivia, Perú, Ecuador y Colombia. (Guevara, Rojas, Carcelén, Bezada, & Arbaiza, 2016); se ha incrementado la crianza comercial del cuy en la zona andina en los últimos años; pero existen problemas que afectan la productividad (Ortega, Jiménez, Ara, & Morales, 2015) ; también se ha logrado importantes avances técnicos en la crianza a gran escala del cuy, pero los conocimientos sobre aspectos sanitarios y epidemiología de las enfermedades son aún escasos.(Layme, Perales, Chavera, Gavidia, & Calle, 2011)

Los sistemas de producción se ven afectados por diversas enfermedades de carácter microbiano, que resultan en pérdidas significativas para el productor, las enfermedades bacterianas más importantes son la Yersiniosis (*Yersinia pseudotuberculosis*), la salmonelosis (*S. typhimurium* y *S. entereditis*) y la colibacilosis (*E. coli*). (Jurado Gómez, Calpa Yana, & Chspuengal Tulcan, 2014)

Las enfermedades bacterianas depende de una serie de factores, razón por la cual es indispensable aplicar técnicas de diagnóstico que permitan la identificación del agente para posteriormente brindar su tratamiento(Wright, 1992). Las fuentes de transmisión pueden ser a través de contacto directo (Gomes, Batista, Oliveira, & Bezerra, 2001) tomando en cuenta que las enterobacterias están ampliamente distribuidas en plantas, agua, suelo, y en el intestino del hombre y los animales (Stanchi *et al.*, 2007).

Hasta la presente se han clasificado aproximadamente 2500 serotipos de *Salmonella*, y sus formas de manifestaciones clínicas varían en dependencia de la especie, razón por la cual, su identificación es clave desde el punto de vista epidemiológico y de salud pública.(Mejía, 2012).

En la actualidad la crianza de cuy se desarrolla de la manera familiar comercial, por sus propiedades organolépticas y su carne es apetecible en el mercado ecuatoriano, por esta razón la producción del cuy se va incrementando, generando ganancias a la familia ecuatoriana. Sin embargo, los aspectos sanitarios no son controlados correctamente, debido a que no son identificados los agentes causales que ocasionan enfermedades a los cuyes provocando mortalidades y como consecuencia pérdidas económicas al bolsillo, por tal razón esta investigación tiene como objetivo caracterizar enterobacterias presentes en el cuy en el sector de Huachi Grande; aportando de esta manera con datos reales que proporcionen su correcta identificación y caracterización de las enterobacterias que afectan a la salud del animal.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Investigaciones realizadas en Perú identificaron los agentes bacterianos presentes en gazapos muertos de cuyes en una granja de crianza intensiva en el distrito de Manchay, Lima. Para lo cual se recolectaron 191 cadáveres de gazapos, que fueron identificados y transportados a 4°C. El procesamiento se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur. Se realizó la necropsia y se tomó muestras de hígado, intestino, bazo y pulmón; las cuales fueron procesadas en agar Sangre, MacConkey, Xilosa Lisina Desoxicolato y pruebas bioquímicas correspondientes. En el resultado del aislamiento de bacterias, se encontró que las más frecuentes son *E. coli* (40.84%) y *Salmonella spp.* (39.27%), indicando el gran poder patógeno y oportunista que tienen estas bacterias en los gazapos (Chuquizuta, 2016).

Con el fin de conocer la condición sanitaria realizaron estudios, en Chile, de un total de 1566 animales, se muestreó un total de 43 cobayos al azar, a cada animal seleccionado se le realizó un examen clínico (constantes fisiológicas de temperatura corporal, frecuencia cardíaca, perfusión periférica, condición corporal), la eutanasia se realizó con T61 intracardiaco. Luego de la necropsia se obtuvieron, muestras de torunda nasofaríngea, raspado traqueal, pulmón, hígado, bazo y contenido cecal. Se agregaron hallazgos de tejidos o secreciones alterados. Considerando los patógenos bacterianos más frecuentes e importantes en cobayos de bioterio, se realizaron cultivos específicos para aislamientos de *Bacillus piliformis*, *Bordetella brochiseptica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Streptococcus pneumoniae* y *Yersinia pseudotuberculosis*. Para *Bacillus piliformis*, además, las muestras se inocularon en huevos embrionados. Todos los estudios de aislamientos fueron negativos. También las muestras de deposiciones fueron negativas a la presencia de huevos de parásitos gastrointestinales por el método de flotación que detecta altas cargas parasitarias. Considerando que la colonia de cobayos estudiada es del tipo convencional, su calidad sanitaria es buena (Avezón, 2009).

Con el propósito de determinar enterobacterias de mamíferos silvestres se realizó estudios en Brasil, en un criadero conservacionista, realizaron estudios, en donde las muestras fueron heces las cuales fueron recolectadas de la región anal, para el examen microbiológico se realizó la siembra en pacas con medio de cultivo Agar MacConkey por ser un medio selectivo para el aislamiento de bacilos Gram negativos y Gram positivos en especial las enterobacterias, también se realizaron frotis en láminas de microscopía para examen bacteriológico, las láminas fueron coloreadas por el método de Gram para la determinación de los grupos de microorganismos de la microbiota intestinal. Se analizaron heces de 10 individuos, pertenecientes a cinco familias de mamíferos. Se observó una gran prevalencia de Las bacterias gram negativas, siendo registradas cinco especies: *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella spp.* (Barreto, Batista, Alves, & Bezerra, 2001) .

Estudios realizados en Perú tuvo por objetivo identificar el serotipo de los aislados sospechosos de *Salmonella spp* de cuyes reproductoras. Los cuyes se encontraban clínicamente sanos. Las cepas aisladas fueron evaluadas mediante pruebas bioquímicas y se procedió a la extracción de ADN de los aislados sospechosos de *Salmonella spp*. Posteriormente, estas muestras fueron analizadas mediante la técnica de PCR múltiple para detectar la presencia de *Salmonella spp*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* Los resultados confirmaron que *Salmonella typhimurium* es el patógeno predominante en cuyes reproductoras al primer parto en esta granja de crianza comercial (Castro, Maturrano, Jimenez , & Geraldine , 2017)

Estudios realizados en España sobre la capacidad de tinción de hematoxilina Eosina para detectar y diferenciar la morfología bacteriana a partir del diagnóstico histológico. Analizaron 390 muestras de tejido. Los tejidos teñidos con ambas técnicas La tinción de Giemsa y la tinción de HyE, se observaron con un microscopio Olympus CX31 y se determinaron cuatro grados de diferenciación bacteriana: Grado 0 = sin evidencia de masas de bacterias o bacterias dispersas en el tejido, Grado 1 = masas de bacterias o bacterias dispersas en el tejido sin clara diferenciación morfológica, Grado 2 = masas de bacterias o bacterias dispersas en el tejido con clara diferenciación de la morfología de algunas bacterias y Grado 3 = masas de bacterias o bacterias dispersas en el tejido con diferenciación clara en la morfología de la mayoría de las bacterias. A partir de los datos obtenidos del diagnóstico se calculó la sensibilidad y especificidad de la tinción de HyE para detectar la presencia de bacterias por campo, La tinción de

Giemsa de Price tuvo mayor sensibilidad y especificidad (100 %) para detectar la presencia de bacterias contrastada con la tinción de HyE, (Olvera & Rosales, 2013)

Estudios realizados en Lima sobre la determinación de la frecuencia de patógenos potenciales de transmisión fecal oral en animales incorporados al distrito de San Marcos, también identifico la sensibilidad de antibacterianos a través de estudios bacteriológicos de hisopados rectales y pruebas de Kirby Bauer, se utilizaron 38 animales. Se aislaron 60 cepas bacterianas, las cuales fueron debidamente identificadas a través del estudio de características morfológicas, metabólicas y serológicas. con una distribución variable: *Citrobacter* spp. (21,7%), *Salmonella typhimurium* (16,7%), *Escherichia coli* (13,3%), bacilos no fermentadores (13,3%), levaduras (11,7%), *Proteus* spp. (10,0%), *Enterobacter* spp. (6,7%), *Shigella* spp. (3,3%), *Arizona* spp. (1,7%) y *Pseudomona* spp. (1,7%), que muestran buenas alternativas terapéuticas por la sensibilidad a diversos antibacterianos (Siever Morales C., 2012).

Estudios previos en México identificaron y caracterizaron una bacteria aislada de un cultivo, para lo cual aislaron con dilución y sembrado en placas de agar soya y tripticaseína, a partir del cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. Posteriormente se obtuvo el cultivo puro, por estría cruzada, en agar soya y tripticaseína y agar gelosa sangre al 5%. Se determino la cepa como BDP. La cepa BDP fue identificada como *Bacillus licheniformis*; hasta ahora esta bacteria no ha sido reportada como patógena y, por lo tanto, puede ser utilizada para procesos biotecnológicos de degradación de parafinas (Jiménez, Shakti, & Benítez, 2010).

El estudio realizado en Cuba sobre el impacto sanitario de salmonelosis en la provincia de Villa Clara, se muestrearon 154 cerdos, enfermos, sospechosos de tener alguna patología, determinándose así la frecuencia de hallazgos de salmonella a partir de las vísceras de estos y piensos destinados para los mismos, se diagnosticaron 63 cerdos positivos a salmonella mediante diagnóstico patológico y bacteriológico, se hicieron siembras en medio selectivo de agar a partir de los aislamientos, se procedió a la identificación de colonias. Se concluye que los valores de los indicadores epizootiológicos en la provincia de Villa Clara oscilaron entre el 0.6 y el 63% de morbilidad, 0.1 a 19% de mortalidad y 18 a 58.2% de letalidad. Los serotipos que más incidieron fueron *S. cholerae suis* y la *S. typhimurium*, siendo la categoría más afectada. El tipo de pienso que presentó mayor nivel de contaminación por *Salmonella* (Lazo et al., 2015).

Estudios previos en Brasil sobre el aislamiento de *Listeria monocytogenes*, y tinción gram en el cual, se estableció el diagnóstico de listeriosis con base en las alteraciones macroscópicas y microscópicas a múltiples focos asociadas con estructuras bacterianas bacilares gram- positivas, la *L. monocytogenes* se aisló de muestras de hígado y de cáscara de arroz utilizada como cama de los cobayos, concluyendo que las lesiones pulmonares fueron consecuencia aspiración de partículas de la cáscara de arroz contaminada con *L. monocytogenes* (Ferreira *et al.*, 2011)

Estudios en Brasil sobre el diagnóstico comparativo de *Corynebacterium pseudotuberculosis* mediante cultivo bacteriológico y PCR en ovejas para las cuales emplearon 202 animales, de los cuales 125 eran provenientes de mataderos y se recogieron muestras de lesiones que sugirieron linfadenitis de pulmón hígado corazón y ganglios linfáticos mediastínicos. Muestras de pus de nódulos linfáticos de 77 ovejas estas eran de rebaños de Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil, para el estudio microbiológico se sembraron 10ml de suspensión en agar sangre, y se incubó durante 48 h a 37°C. Después que finalizó la incubación y se produjo la multiplicación bacteriana en el medio. Se realizó tinción gram y las especies bacterianas fueron identificadas por catalasa, MacConkey agar. 113 cultivos (56%) fueron positivos para el *Corynebacterium* spp. 38 de ellos (34%) se identificaron como *C. pseudotuberculosis* mediante las siguientes pruebas bioquímicas: producción de catalasa, fermentación variable de glucosa y lactosa, motilidad negativa, ureasa positiva, reducción negativa de nitrito y licuefacción negativa de gelatina. Se aislaron otros agentes bacterianos y se realizaron métodos bioquímicos en las 202 muestras analizadas: *Staphylococcus* spp. (45,5%), *Bacillus* spp. (38%), *Corynebacterium* spp. (7%), *Enterobacterias* (6,5%), *Pseudomonas* spp. (3%), *Escherichia coli* (3%), *Acinetobacter* spp. (2,5%), *Serratia marcescens* (2%), *Streptococcus* spp. (2%) (Figueiredo de Castro *et al.*, 2015).

Estudios realizados en Perú para determinar la presencia de *Salmonella* spp. en 30 tortugas para lo cual se tomó muestras de heces a todas las tortugas por medio de hisopado rectal estéril y se llevaron a la Estación Experimental, donde se colocaron en el medio de enriquecimiento Agar Trypticase de Soya. De allí se enviaron bajo refrigeración (4-6 °C) al laboratorio. El cultivo e identificación de *Salmonella* spp. Se llevó a cabo siguiendo los protocolos. Se utilizó caldos de enriquecimiento como el Caldo Rappaport, Caldo Tetrionato y Caldo Selenito, y placas de agar *Salmonella*

shigella (SS), agar Verde Brillante (VB) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD). Los resultados evidenciaron el aislamiento de dos muestras positivas a *Salmonella* spp. en las 30 tortugas (6.7%). Adicionalmente, se encontró otros patógenos en la población de tortugas como *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* en el 80%, *Proteus vulgaris* en el 26.6%, *Citrobacter spp.* en el 16.7%, y *Proteus mirabilis* en el 6.7%. El análisis de tipificación señaló que era la *Salmonella* entérica subespecie entérica serotipo *typhimurium* (Ruiz, Calle, & Gálvez, 2010).

Estudios realizados en Venezuela sobre las características tintoriales de *Neisseria gonorrhoeae* con la tinción diferencial de fluorescencia modificada, se realizaron aislamientos de *N. gonorrhoeae*, se inoculó una colonia para el crecimiento a partir un caldo BHI con 5% de sangre humana. Se realizaron extendidos para la tinción, pre y post tratamiento a intervalos de 5 a 120 min, y se aplicó la prueba de McNemar para verificar la asociación de la reactividad tintorial antes y después del tratamiento enzimático. La tinción de la bacteria fue predominante el anaranjado ligeramente fluorescente y la secuencia de color en el ciclo fue amarillo, anaranjado y verde (Fernández, Suniaga, & Ysasis, 2014)

Estudios en Perú sobre la susceptibilidad a antibacterianos in vitro de *Salmonella entérica* aislada de cuyes Se seleccionó 65 cuyes que presentaron signos clínicos de salmonelosis. La siembra de los hisopados se hizo en medios de cultivo agar MacConkey, incubándose por 48 h a 37 °C. Se su cultivó el hisopado en caldo de enriquecimiento tetrionato (CT), y se repicó en medio selectivo agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) por 24-48 h a 37 °C. Las colonias sospechosas de *Salmonella spp.* se cultivaron en agar MacConkey. La susceptibilidad a antibacterianos se analizó mediante el método de difusión de discos o técnica de Kirby-Bauer. El 61.5% (40/65) estaba infectado con *Salmonella entérica*. Los órganos donde se aisló la bacteria con mayor frecuencia fueron el bazo (92.5%, 37/40) y el hígado (87.5%, 35/40). El 100% de las 40 cepas de *S. entérica* aisladas eran sensibles a cuatro drogas: enrofloxacin, sulfatrimetropim, estreptomycin y amoxicilina (Matsuura, Morales, Calle, & Ara, 2010).

Estudios realizados en Perú, para la identificación de cepas patógenas de explotaciones avícolas en base a la presencia de cinco genes codificadores de los factores de virulencia: *iss*, *iucC*, *tsh*, *cvaC* e *irp2*, mediante la técnica de Multiplex PCR. Se muestrearon 36 aves entre los 14 y 31 días de edad, provenientes de tres centros avícolas ubicados en el norte, centro y sur del país. Se hicieron aislados intestinales y se obtuvieron tres colonias sospechosas de *E. coli* por ave (n=108 colonias), que fueron evaluadas bioquímicamente con TSI, SIM, LIA y CITRATO, y adicionalmente con agar para confirmación del diagnóstico. Las 41 colonias positivas a *E. coli* fueron analizadas mediante Múltiples PCR, resultando 65.9% de colonias potencialmente patógenas, se demostró que el 9.8% de los aislados contenían los cinco genes. Adicionalmente, los tres patotipos que contienen los genes *irp2*, *iucC* y *tsh* fueron encontrados en las zonas de La Libertad y Lima (Carranza, León, Falcón, Neumann, & Kromm, 2012)

En Perú, con el fin de determinar la frecuencia del tipo de lesiones anatomopatológicas que predominan en órganos de cobayos infectados con *Salmonella spp*, se hizo un estudio retrospectivo con 81 protocolos de necropsia del Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, que tuvieron diagnóstico bacteriológico positivo a *Salmonella spp*, se clasificó las lesiones anatomopatológicas en procesos inflamatorios, trastornos circulatorios, degenerativos y de adaptación, siendo la inflamación el trastorno patológico más frecuente (177/408). Se encontró una mediana de cinco órganos afectados por animal, siendo el hígado el órgano con más lesiones patológicas (87.7% \pm 0.1%), donde la imagen patomorfológica predominante fue la hepatitis necrótica (36/81) (Layme et al., 2011)

Con la finalidad de caracterizar salmonella (*salmonella spp*) en huevos mediante la utilización del sistema microgen *gna*, se realizaron estudios en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, analizando un total de 229 huevos, en las cuales las muestras se recolectaron en forma aleatoria. Después los procedimientos microbiológicos se utilizó las pruebas cualitativas de confirmación bioquímica para *Salmonella* (Lisina, Ornitina, H₂S, Glucosa, Manitol, xilosa, ONPG, Indol, Ureasa, Voges Proskauer, Citrato, Triptófano desaminasa.), detectando la presencia de seis muestras positivas a *Salmonella spp.*, el cual representa el 7,9 % del porcentaje de muestreo y con la ayuda

del Sistema Microgen GN A fueron identificados dos serotipos de Salmonella las mismas que fueron *Salmonella pullorum* con una presencia de 6,58% y *Salmonella especies* con una presencia de 1,32% (Acosta, 2016) .

Con el fin de evaluar el desempeño de metodologías, una microbiológica y una molecular basada en la amplificación por (PCR), realizaron estudios en Colombia, para la detección de *Yersinia pseudotuberculosis* en heces de cuyes, la metodología se realizó teniendo en cuenta su sensibilidad y especificidad analítica, la sensibilidad analítica más alta se observó con la metodología en la que se combinó preenriquecimiento, aislamiento microbiológico y PCR, con un rango de detección entre $1,5 \times 10^4$ y $1,5 \times 10^3$ unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g) de material fecal; mientras que la mayor sensibilidad obtenida en PCR anidada fue de $1,5 \times 10^5$ ufc/g de materia fecal. Tanto la metodología microbiológica como la molecular presentaron ventajas en los ensayos, por lo que se sugiere combinar técnicas microbiológicas y moleculares para obtener un mejor desempeño diagnóstico. (Jaramillo, Patiño, & Rodríguez, 2009)

Con el fin de determinar *Salmonella enteritidis* en huevos de gallina comercializados en Tunja (Colombia), se realizó un estudio examinando 230 huevos provenientes de cinco avícolas. Las muestras de cascarón se tomaron de la parte externa el mismo, frotando un hisopo estéril sobre la superficie del huevo, cada una de las muestras se adicionó en 27 mL de agua peptonada y se incubó a 37°C por 24 horas, luego se colocó 0,1 mL del medio de pre-enriquecimiento fue transferido a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis y 1 mL a caldo selenito cistina, incubándose a 37°C respectivamente durante 24 horas. A partir de los caldos de enriquecimiento selectivo se realizó siembra por agotamiento en medio XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato) y medio SS (*Salmonella-Shigella*), respecto al porcentaje de especies bacterianas encontradas en los 45 huevos, tenemos que Salmonella Enteritidis se encontró en cuatro huevos (8,9%), todos estos pertenecientes a una misma avícola. También se encontraron otras enterobacterias en 39 huevos (86,66%) y *S. aureus* en dos huevos (4,44%) (Ramírez, Rincón, & Vargas, 2014)

Con la finalidad de detectar enterobacterias sensibles a cefotaxima, realizaron estudios en Argentina, utilizando una prueba rápida in house, basada en el cambio de pH del rojo fenol debido al hidrólisis de este antibiótico, las cepas de enterobacterias procedentes de 1.947 urocultivos se evaluaron mediante los paneles MicroScan y esta prueba in house. Mediante los paneles de MicroScan se estudiaron 499 aislados de enterobacterias, entre los cuales había 27 aislados de *Escherichia coli* productora de b-lactamasa de espectro extendido (BLEE), 16 de *Klebsiella pneumoniae* BLEE y una de *Klebsiella oxytoca* BLEE. La prueba in house mostró una sensibilidad del 98% y una especificidad del 97%, con un valor predictivo negativo del 100% y un valor predictivo positivo del 78%. La prueba in house basada en el cambio de pH es útil en nuestro medio para detectar presuntivamente de forma rápida cepas de enterobacterias con cierta resistencia a cefotaxima (Jiménez, Hoyos, Rodríguez, Navarro, & Gutiérrez, 2016).

2.2 CATEGORIAS FUNDAMENTALES O MARCO CONCEPTUAL

Pruebas para la confirmación de enterobacterias

2.2.1. Agar MacConkey

El agar MacConkey es un medio de cultivo selectivo y diferencial para bacterias (Group, 2009) diseñado para aislar selectivamente bacilos Gram negativos y entéricos (encontrados normalmente en el tracto intestinal) y diferenciarlos sobre la base de la fermentación de la lactosa. El cristal violeta y las sales biliares inhiben el crecimiento de organismos grampositivos, lo que permite la selección y el aislamiento de bacterias gram negativas, Las bacterias entéricas que tienen la habilidad de fermentar lactosa pueden ser detectadas utilizando el carbohidrato lactosa y el indicador de pH rojo neutro (Soria, 2009)

2.2.2. Fundamento

En el medio de cultivo, las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva (Laboratorios Britania, 2015)

Por fermentación de la lactosa, disminuye el pH alrededor de la colonia. Esto produce un viraje del color del indicador de pH (rojo neutro), la absorción en las colonias, y la precipitación de las sales biliares. Los microorganismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras (Laboratorios Britania, 2015)

2.2.3. Uso

Sirve como un indicador visual de pH, distinguiendo así las bacterias gram negativas que pueden fermentar la lactosa y las que no pueden fermentar lactosa (Laboratorios Britania, 2015)

2.2.4 Preparación

Suspender los ingredientes en el agua destilada. Calentamos agitando frecuentemente y dejamos hervir hasta disolver completamente. Esterilizamos en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Se debe evitar el sobrecalentamiento. Enfriamos entre 45°C y 50°C, por último, colocamos 20 mL de medio por cada placa y dejar solidificar. (MDM, 2010)

2.2.5. Colonias típicas

Tabla 1. Colonias típicas

Elementos	Identificadores
<i>Escherichia coli</i>	Rojas con halo turbio
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Rosadas mucosas
<i>Salmonella typhimurium</i>	Incoloras, transparentes
<i>Shigella flexneri</i>	Incoloras, transparentes
<i>Proteus mirabilis</i>	Incoloras, transparentes
<i>Enterococcus faecalis</i>	Diminutas, incoloras, opacas

(Stanchi et al., 2007)

2.3. Caldo Cerebro Corazón.

2.3.1. Uso

Medio líquido altamente nutritivo que permite el desarrollo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales y nutricionalmente exigentes, aerobios y anaerobios (Laboratorios Britania, 2001).

2.3.2. Fundamento

Su alto valor nutritivo está dado por la infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona que constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, aminoácidos, péptidos y vitaminas necesarias para el desarrollo de microorganismos. En el medio de cultivo, la glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer (Laboratorios Britania, 2001)

2.3.3. Preparación

Suspender 37 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta disolver completamente. Distribuir en tubos o en otros recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos (Oxoid, 2010)

Siembra: Por inoculación directa de la muestra o del microorganismo en estudio.
Incubación: En aerobiosis, a 35-37 °C durante 18 a 24 horas. Algunos microorganismos pueden requerir hasta 7 días de incubación (Becton, 2013)

2.4.1. Sistema Microgen

Este es un sistema que permite la identificación de todas enterobacterias reconocido en la actualidad y una amplia gama de bacilos Gram negativos oxidasa-positivo (Bioproducts, 2007).

2.4.2. Uso

el sistema Microgen GN-ID emplea a 12 (GN A) sustratos bioquímicos estandarizados en micro pocillos para identificar la familia Enterobacteriaceae y otros bacilos gram negativos no fastidiosos (oxidasa negativo y positivo). El kit está destinado a utilizar una sola vez (Bioproducts, 2007).

2.4.3. Principio de la prueba

La tira de prueba de micro pocillos GN A, contiene 12 sustratos bioquímicos estandarizados que han sido seleccionados sobre la base de un extenso análisis computarizado de bases de datos publicadas para la identificación de la familia Enterobacteriaceae y los bacilos gram negativos positivos y negativos comúnmente encontrados. Los sustratos deshidratados en cada pocillo se reconstituyen con una suspensión salina del organismo a identificar. Si los sustratos individuales son metabolizados por el organismo, se produce un cambio de color durante la incubación o después de la adición de reactivos específicos. La permutación de sustratos metabolizados puede ser interpretada usando el Software del Sistema de Identificación de Microgen (MID-60) para identificar el organismo de prueba. La tira de prueba de micro pocillos GN A, está destinada a la identificación de fermentadores de glucosa positivos a nitrógeno positivos a la oxidasa que comprenden los géneros más comunes de la familia Enterobacteriaceae (Bioproducts, 2007).

2.4.4. Advertencia y precaución

1. Los reactivos suministrados en este kit son sólo para uso de laboratorio
2. Siempre se debe utilizar un cultivo puro de 18-24 horas del aislado bacteriano a identificar. Una oxidasa la prueba debe realizarse en el aislamiento antes de la inoculación de la tira de prueba del micropozo
3. Deben tomarse las precauciones apropiadas al manipular o eliminar los patógenos potenciales. Después de usar, deseche todos los materiales contaminados por autoclave, incineración o inmersión con un desinfectante apropiado (Bioproducts, 2007).

2.4.5. Procedimiento inoculación e incubaciones

- Llevar a cabo una prueba de oxidasa en el aislado. Los organismos positivos para la oxidasa sólo pueden identificarse inoculando las tiras de prueba de micro pocillos GN A.
- Emulsionar una sola colonia de un cultivo de 18-24 horas en 3 ml de solución salina al 0,85% estéril para la tira de prueba de micro pocillos GN A. Si se van a inocular las tiras reactivas de micro pocillo GN A, la colonia debe emulsionarse en 3-5 ml de solución salina estéril al 0,85%. Mezcle bien.
- Retire con cuidado la cinta adhesiva que sella la tira de prueba del micropozo. NO deseche la tira de sellado ya que se requerirá más adelante.
- Utilizando una pipeta Pasteur estéril, añadir 3-4 gotas (aproximadamente 100 µl) de la suspensión bacteriana a cada pocillo de la tira de prueba de micro pocillos.
- Como control de pureza, transferir 1 gota de la suspensión bacteriana a una placa de pureza utilizando un medio diferencial no selectivo. Incubar la placa aeróbicamente a 35-37 ° C durante 18-24 horas.
- Después de la inoculación, se recubren los pocillos 1, 2, 3 y 9 (banda de análisis de micro pocillos GN A contando desde el extremo con lengüeta). Estos pozos se destacan con un círculo negro alrededor del pozo para ayudar en la adición de aceite a los pozos correctos.
- Sellar la parte superior de la tira de prueba del micropozo con la cinta adhesiva retirada antes e incubar a 35-37 ° C. Asegúrese de que las perforaciones en la cinta adhesiva se encuentren sobre los pocillos 7, 11 y 12 en la tira de prueba de micro pocillos GN A
- Las tiras reactivas de los micro pocillos GN A se leen después de 18-24 horas de incubación para Enterobacteriaceae, y después de 48 horas para los aislados positivos a la oxidasa(Bioproductions, 2007).

2.4.6. Lectura y adición

Banda de GN A

- Retire la cinta adhesiva y registre todas las reacciones positivas con la ayuda de la tabla de colores. Registre los resultados en los formularios proporcionados
- Agregue los reactivos apropiados a los siguientes micro pocillos:
- Añadir 2 gotas de reactivo de Kovács al pozo 8. Leer y registrar los resultados después de 60 segundos. La formación de un color rojo indica un resultado positivo.
- Añadir 1 gota de reactivo VP I y 1 gota de reactivo VP II al pocillo 10 y leer después de 15-30 minutos. La formación de un color rosa / rojo intenso indica un resultado positivo
- Añadir 1 gota de reactivo TDA al pocillo 12 y leer después de 60 segundos. La formación de un color rojo cereza indica un resultado positivo.
- Registre estos resultados adicionales en los formularios proporcionados (Bioproducts, 2007).

2.5.1. Enterobacterias

Las bacterias enterotoxigénicas (cepas de *Escherichia coli*) producen enterotoxinas que estimulan la secreción de las células epiteliales intestinales o lesionan directamente la membrana celular de los enterocitos. Pueden haber o no una inflamación menor asociada. La diarrea que se desarrolla es secretora, caracterizada por ser de volumen y rica en electrolitos (Ramsey & Tennant, 2012)

Las bacterias citotóxicas (*Clostridium spp*, cepas de *E. Coli*) producen citotoxinas que lesionan a los enterocitos con la correspondiente pérdida de los mismos e inflamación.

Las bacterias enteropatógenas, también conocidas como bacterias de adherencia y borrado (cepas enteropatógenas de *E. coli*), se adhieren a la superficie de los enterocitos y borran las microvellosidades sin invadir la superficie epitelial.

Algunas pueden producir citotoxinas. La reducción en el área de superficie de intestino delgado provoca mala digestión y mala absorción. Las bacterias enteroinvasivas (*Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, cepas enteroinvasivas de *E. coli*) invaden las superficies intestinales epiteliales causando lesión directa en la mucosa (Ramsey & Tennant, 2012)

2.5.2. *Salmonella spp.*

Salmonella spp. Comprende bacterias gram negativas forma de bacilo con una distribución geográfica mundial. La infección se puede dar en todos los animales, y es una importante zoonosis. Hay muchos serotipos de *Salmonella* de patogenicidad variable. Pueden ser infecciones adquiridas por contacto con agua o comida contaminada y por exposición de material fecal infectado. *Salmonella* puede sobrevivir en el ambiente por periodos prolongados, especialmente cuando la temperatura y humedad son altas (Ramsey & Tennant, 2012)

2.5.3. Clasificación taxonómica

La *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Los miembros de esta familia son bacilos Gram negativos de 2 a 3 x 0.4 a 0.6 micras de tamaño. *Salmonella spp* es el grupo más complejo de todas las enterobacterias con más de dos mil cuatrocientos serotipos descritos en el esquema Kaufman White, determinados por la composición de los antígenos somáticos (O), flagelares (H), o de superficie Vi(k). *S. entérica* subespecie *entérica* comprende el 99% de los serotipos aislados de muestras clínicas (Parra, Durango, Máttar, & De Tema, 2002)

Tabla 2. Taxonomía de *Salmonella*

Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Grammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Genero	<i>Salmonella</i>
Especie	<i>Salmonella spp</i>

(Parra et al., 2002)

2.5.4 Epidemiología de Salmonelosis

La salmonelosis es causada por una gran cantidad de especies de *Salmonella*. Se caracteriza por uno o más de tres signos (septicemias, enteritis aguda que puede convertirse en crónica). La enfermedad es vista en todos los animales y ocurre a nivel mundial. Los animales son a la vez importantes como reservorios de la infección humana, la cual es adquirida por vía oral al ingerir bebidas y comidas contaminadas, especialmente aves y huevos (Parra et al., 2002)

2.5.5. Manifestaciones clínicas

Los síntomas son diarrea, anorexia, la deshidratación puede desarrollarse a consecuencia de las pérdidas de agua y electrolitos. Los animales septicémicos normalmente tienen pirexia y muestran signos de neumonía, meningitis, abortos, mortinatos. La mortalidad es mayor cuando se desarrolla la septicemia

La muestra para confirmar *Salmonella* se confirma mediante cultivo de heces, pero cuando un animal muere se debería someter a bacteriología muestras del intestino delgado, hígado, riñón y pulmón. (Ramsey & Tennant, 2012).

2.6. *Escherichia coli*

Es una bacteria considerada tradicionalmente como uno de los principales patógenos intestinales, sistémicos y entéricos, y tiene gran importancia tanto por las enfermedades que causa tanto en humanos como en animales domésticos como por los grandes problemas económicos que causa (contaminación alimenticia, pérdida de animales de cría, entre otros) (Aychai, 2007).

2.6.1. Clasificación taxonómica

Esta bacteria pertenece al grupo de las Enterobacteriaceae (enterobacterias), y como ellas comparte ciertas características como ser bacilo Gram negativo, fermentar glucosa y un amplio abanico de azúcares, ser oxidasa negativo, catalasa positivo, no esporulada, aerobia facultativa, reducir los nitratos y crecer bien en agar MacConkey, ya que las sales biliares que contiene este medio no inhibe su desarrollo (A. R. Ramírez, Rojas, & General, 2010)

Tabla 3. Taxonomía de *Escherichia coli*

Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Grammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Genero	Escherichia
Especie	<i>E. coli</i>

(Ramírez et al., 2010)

2.6.2. Manifestaciones Clínicas

La enfermedad ataca al tracto digestivo, a nivel intestino delgado; la bacteria que produce es la *Escherichia coli*, por lo general ataca animales jóvenes, y principalmente el cuy va a estar erizado, con fiebre de 39.6, separado de los demás, inapetente, y puede haber diarrea profusa si no ha ocurrido la muerte, el intestino delgado muchas veces se encuentran distendido con presencia de líquido incoloro (López et al., 2003)

2.7. *Klebsiella*

A finales del siglo XIX, tras los estudios realizados por Edwin Klebs determino el causante de la neumonía, enfermedad muy grave, bacterias de esta especie han sido aisladas de muestras de diversas infecciones animales (Stanchi et al., 2007)

2.7.1. Clasificación

En este género se agrupan las siguientes especies: *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K.rhinoscleromatis*, *K. ornithinolytica*, *K. terrígena* y *K. planticola* (Stanchi et al., 2007)

2.7.2. Manifestación clínica

Manifiestan que *Klebsiella pneumoniae* o *Pasterella pneumotropica*. El cuadro de esta enfermedad es principalmente respiratorio. Se presenta con disnea secreción naso lagrimal, respiración costal el diagnóstico se da por cultivo y hallazgos clínicos: en la necropsia se puede observar exudados de tipo mucopurulento en los pulmones (López et al., 2003)

2.8 UNIDAD DE ANALISIS

2.8.1. Cuy (*Cavia porcellus*)

El cuy o cobayo es un mamífero roedor originario de la zona andina del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia. Como animal productor de carne se le conoce también como Curí. Constituye un producto alimenticio, de alto valor biológico. Contribuye en dar seguridad alimentaria a la población rural de escasos recursos (FAO, 1997)

En los países andinos existe una población estable de más o menos 35 millones de cuyes. En el Perú, país con la mayor población y consumo de cuyes, se registra una producción anual de 16 500 toneladas de carne proveniente del beneficio de más de 65 millones de cuyes, producidos por una población más o menos estable de 22 millones de animales criados básicamente con sistemas de producción familiar. La distribución de la población de cuyes en el Perú y el Ecuador es amplia; se encuentra en la casi totalidad del territorio, mientras que en Colombia y Bolivia su distribución es regional y con poblaciones menores (FAO, 1997)

Las investigaciones realizadas en el Perú han servido de marco de referencia para considerar a esta especie como productora de carne. Los trabajos de investigación en cuyes se iniciaron en el Perú en la década del 60, en Colombia y Ecuador en la del 70, en Bolivia en la década del 80 y en Venezuela en la del 90. El esfuerzo conjunto de los países andinos está contribuyendo al desarrollo de la crianza de cuyes en beneficio de sus pobladores (INIAP, 2016).

2.8.2. Clasificación taxonómica

Tabla 4. Clasificación taxonómica del cuy (*Cavia porcellus*)

Clase	Mamíferos
Orden	Roedores
Suborden	Hystricomorpha
Familia	Caviidae
Género	<i>Cavia</i>
Especie	<i>Porcellus</i>

(FAO, 1997)

2.8.3. Características anatómicas y morfológicas

Tabla 5. Características del cuy

Longevidad media:	4,0 - 8,0 años
Temp. Corporal:	37,2 - 39,5 °C
Fórmula dentaria:	I 1/1 C 0/0 PM 1/1 M3/3
Peso adulto:	500 - 1200 g (macho) 700 - 900 g (hembra)
Longitud corporal:	20 - 25 cm
Número de dedos:	miembros anteriores 4; miembros posteriores 3

(FAO, 1997)

2.8.4. Características reproductivas

Madurez sexual: Macho 10 semanas (400 gramos) - Hembra 6 semanas (200 gramos)

Época de reproducción: Todo el año

Duración del ciclo: 15 - 17 días

Tipo de ovulación: espontánea (10 horas de aparecido el celo)

Duración de la gestación: 59 - 72 días

Número medio de crías: 2 - 3

Pariciones por año: 2 - 3

(FAO, 1997)

2.8.5. Principales hábitos

Estos animales presentan actividad permanente, diurna y nocturna con pequeños periodos de reposo. Naturalmente viven en colonias de 5 a 10 individuos, en madrigueras. Pueden vivir en compañía de conejos, emiten silbidos para comunicarse y marcan su territorio. Manifiestan claramente dominancia, sumisión y defensa (FAO, 1997)

2.8.6. Alimentación

El consumo de alimentos es de aproximadamente 60 g/kilo de peso vivo/día y el consumo de agua es de 100 - 200 ml/kilo de peso vivo/día. Preferentemente en base a frutas, legumbres y heno, también aceptan semillas. No debe descuidarse por ningún motivo el aporte de vitamina C, adicionándola al agua o a través del suministro de cítricos, su déficit es mortal para esta especie. Evitar el repollo, cáscara de papas, cebollas, ajo y alimentos para hámster. Estos animales, al igual que los hámster realizan cecotrofia (Luis Raggi, 2009)

CAPITULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

En la asociación Compracuy existe la presencia de bacterias

3.2. OBJETIVOS

GENERAL

- Caracterización de enterobacterias en *Cavia porcellus* en Huachi grande

ESPECIFICOS

- Aislar e identificar enterobacterias en órganos de necropsia en *Cavia porcellus*
- Tipificar las enterobacterias en *Cavia porcellus*
- Determinar el tipo de explotación de *Cavia porcellus* en la asociación COMPRACUY en Huachi Grande.

CAPITULO IV MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

En la presente investigación el muestreo se realizó en la asociación COMPRACUY ubicada en Huachi Grande se encuentra ubicada al sur de la ciudad de Ambato a 8 Km por la vía Panamericana que conduce a Riobamba. Con una altitud de 2650 msnm. Cuenta con una superficie territorial de 14,5 Km² que corresponde al 1,44 % del área cantonal.

Sus límites son:

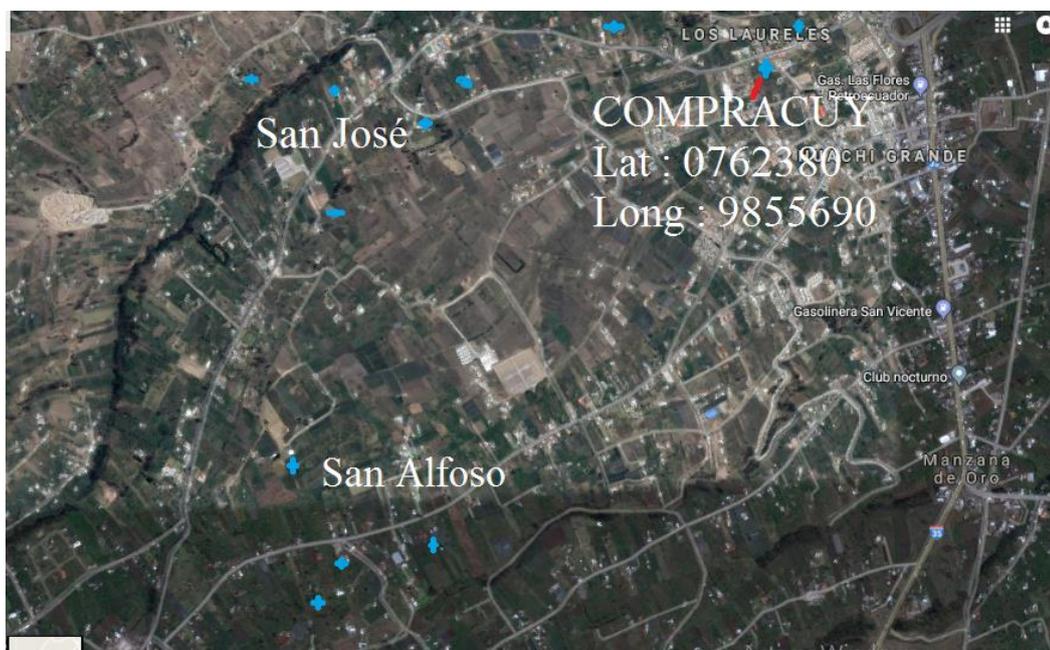
Norte: la ciudad de Ambato

Sur: Cantón Tisaleo

Este: Montalvo y Totoras

Oeste: Santa Rosa.

Gráfico 1. Localización de las muestras del estudio



Fuente : (Google maps, 2017)

4.2. CARACTERISTICAS DEL LUGAR

Tabla 6. Condiciones geográficas

	Características
Altitud	2650 msnm
Latitud	-1.30960888
Longitud	-78.64700718
Temperatura media	12- 17°C
Humedad relativa	60-75
Precipitación	5017.8 mm
Clima	Templado y frío

Fuente: (INAMHI, 2013)

4.3. EQUIPOS Y MATERIALES

Equipos

- Autoclave
- Balanza electrónica
- Refrigeradora
- Incubadora

Materiales biológicos

- Animales en estudio

Materiales de escritorio

- Cámara
- Esferos
- Cuaderno

Materiales físicos

- Mascarilla
- Cofia
- Mandil
- Guantes

- Tubos de ensayo
- Algodón
- Pipeta Pasteur
- Agitador
- Espátula
- Equipo de disección
- Vasos de precipitación
- Cajas Petri estériles
- Mechero de bunsen
- Hisopos
- Papel aluminio
- Papel empaque
- Fósforos

Reactivos

- Agua destilada
- Caldo cerebro – corazón
- Agar MacConkey (500gr)
- Sistema Microgen GN-ID A (API 20 E)
- Reactivos para revelación de pruebas bioquímicas (Aceite mineral OIL, VP1 = KOH 40%, VP2 = α -naftol, TDA = FeCl₃ 10%, IND = Reactivo de Kovács o de Dimetilamino cinamaldehido).
- Solución salina

4.5. FACTORES EN ESTUDIO

Enterobacterias

4.6. TRATAMIENTO

En la presente investigación no existen tratamientos ya que se determina la presencia de enterobacterias su caracterización y tipificación a partir de una muestra de órganos de necropsia de *cavia porcellus*

4.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

La investigación se centra en un estudio descriptivo exploratorio.

4.8 VARIABLE RESPUESTA

4.8.1. Caracterización y Tipificación de Enterobacterias

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Cálculo del tamaño de la muestra

$$n = \frac{Z^2 P Q N}{Z^2 P Q + N e^2}$$

n=Tamaño de la muestra

Z=Nivel de confianza 99% = 2.576

P=Probabilidad de que ocurra 0.5

Q=1-p

N=número poblacional 1900

e=error 0.01

$$n = \frac{(2.576)^2 * 0.5 * (1-0.5) * 1900}{(2.576)^2 * 0.5 * (1-0.5) + 1900 * (0.01)^2}$$

$$n = 119$$

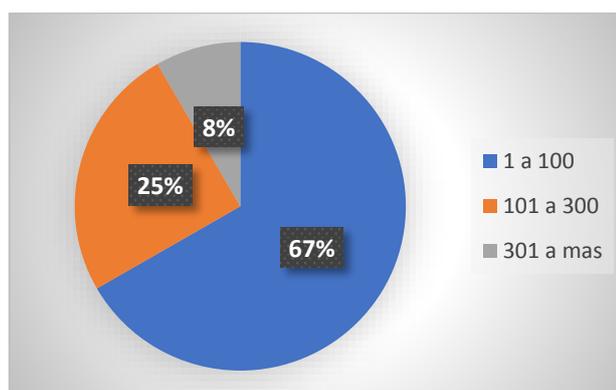
Identificación de las explotaciones

Se realizó un reconocimiento previo *in situ* del área del estudio para su identificación y posterior evaluación mediante el diseño y aplicación de encuestas epidemiológicas

Tabulación de la encuesta epidemiológica

1. Total, de animales que posee

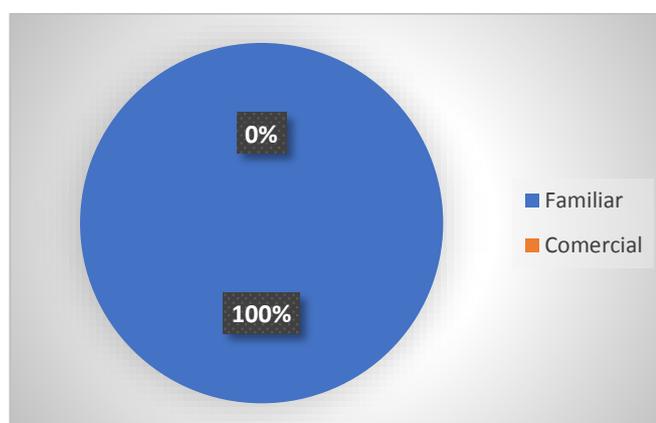
1 a 100	8
101 a 300	3
301 a mas	1



Debido a que es una asociación que está en progreso el número de animales mínimo por socio es de 100 y el máximo supera los 300

2. Tipo de producción que tiene:

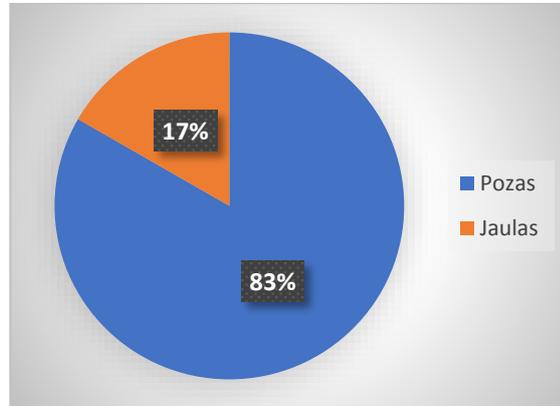
Familiar	12
Comercial	0



Debido al aumento de la demanda del cuy por ser muy apetecible en el mercado ecuatoriano algunos productores han visto la necesidad de aumentar su producción.

3. Tipo de instalaciones

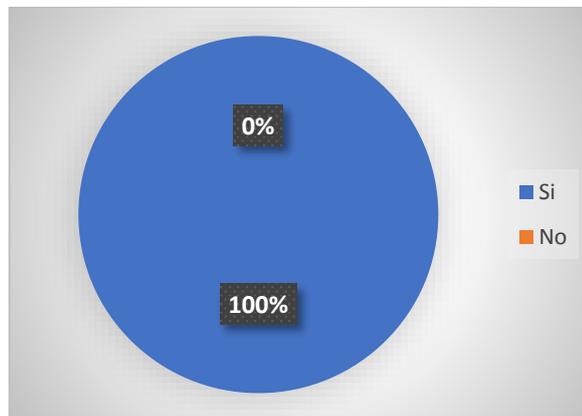
Pozas	10
Jaulas	2



Por su alto costo en cuanto a jaulas se refiere la mayoría de productores tienen a sus animales en pozas.

4. En su granja hay ventilación para los cuyes

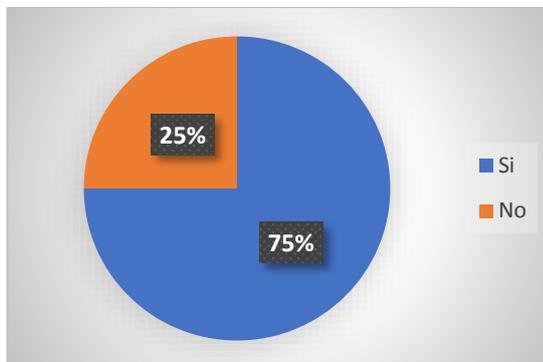
Si	12
No	0



Todas las granjas visitadas poseen ventilación

5. Tiene iluminación adecuada su granja.

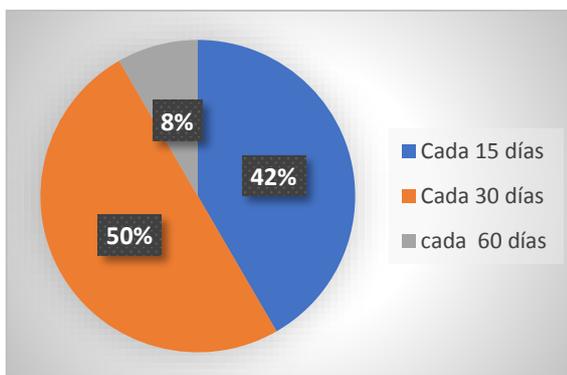
Si	9
No	3



La 75% de los encuestados cuentan sus instalaciones con techos que permiten dar claridad a sus animales, pero no obstante el 25 % argumentó que el precio de los techos para permitir el paso de luz es muy caro

6. Cada que tiempo limpia las instalaciones

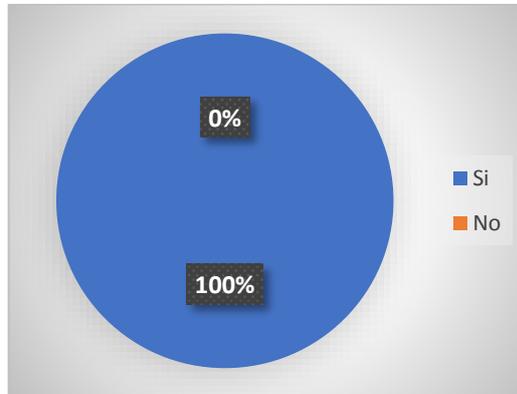
Cada 15 días	5
Cada 30 días	6
cada 60 días	1



La mayor parte de los encuestados limpia las instalaciones cada 30 días.

7. Realiza desinfecciones en sus instalaciones.

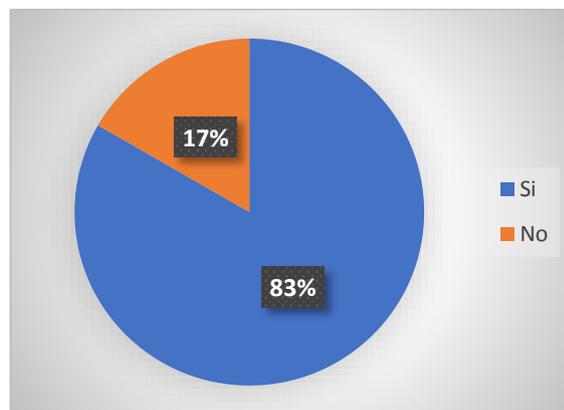
Si	12
No	0



Todas las personas encuestadas argumentan que realizan desinfecciones al momento de retirar el material orgánico (heces).

8. Presenta problemas de mortandad en su granja

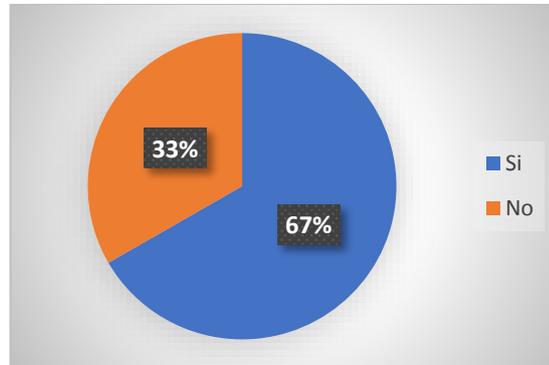
Si	10
No	2



Todos los encuestados manifestaron que tienen problemas en su granja en cuanto a mortandad los principales problemas que ellos observan son problemas digestivos, respiratorios.

9. Administrado algún tipo de antibiótico para tratar las enfermedades de sus cuyes.

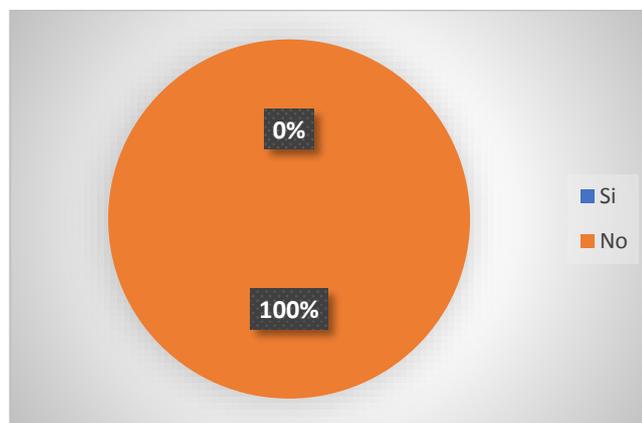
Si	8
No	4



La mayor parte argumentó que si han utilizado fármacos, y el más utilizado es la enrofloxacina

10. Vacuna a sus animales para prevenir enfermedades

Si	0
No	12



Todos los encuestados manifestaron que no aplican un plan de vacunas preventivas para enfermedades de carácter bacteriano.

Lugar de la muestra

La muestra fue recolectada en la asociación (COMPRACUY) de 12 socios ubicados en diferentes partes de Huchi Grande cuya ubicación se observa en el gráfico 1 (puntos azules) pertenecientes al cantón Ambato provincia de Tungurahua, ya que es una asociación en crecimiento que solamente cuenta con una población de 1900 animales, las muestras fueron tomadas al azar sin considerar edades ni sexo. El procesamiento microbiológico de las muestras se realizó en el laboratorio de bacteriología de la Universidad Técnica de Ambato.

4.8.2. Procesamiento microbiológico

Durante todo el proceso de diagnóstico se trabajó guardando todas las normas de bioseguridad establecida por el laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Técnica de Ambato, en el mismo que se utilizó materiales estériles, el uso de mascarilla, mandil y guantes de látex, con el uso de la cámara de flujo laminar y desinfecciones periódicas de la superficie del área.

4.8.3. Caldo Cerebro Corazón

Una vez establecido el tamaño de la muestra que fue de 119, realizamos la preparación de Caldo Cerebro Corazón para lo cual se hizo según (Oxoid, 2010) el polvo de Caldo Cerebro Corazón fue disuelto en agua destilada. Después se dejó reposar por 5 min, luego trasladamos al calentador con agitación frecuente y llevar a la ebullición hasta disolver completamente. Una vez disuelto colocamos en vaso de precipitación con papel aluminio tapamos el mismo y esterilizamos en autoclave a 121°C durante 15 min

Por último, distribuimos en tubos y trasladamos al refrigerador hasta que la siembra se desarrolle.

4.8.4. Preparación Agar MacConkey

Para la preparación de agar MacConkey se realizó según (Group, 2009) polvo de agar MacConkey fue disuelto en agua destilada. Después se dejó reposar por 5 min, luego trasladamos al calentador con agitación frecuente y llevar a la ebullición hasta disolver completamente. Se debe evitar el sobrecalentamiento puesto que esta solución

se riega con facilidad. Una vez disuelto colocamos en vaso de precipitación con papel aluminio tapamos el mismo y esterilizamos en autoclave a 121°C durante 15 min. Por último, colocamos en cajas Petri dejamos enfriar hasta que se solidifique, llevamos al refrigerador para que se mantenga hasta el momento de la siembra.

4.8.5. Necropsia

Para realizar la necropsia se colocó al animal en decúbito dorsal la primera incisión se realiza desde la sínfisis mandibular hasta la sínfisis púbica, abarcando únicamente la piel, después se realizó un corte desde el proceso xifoideo del esternón hasta la sínfisis púbica, evitando la perforación de órganos de la cavidad abdominal. Luego se expuso los órganos y se tomó la muestra deseada, en este caso se tomó parte hígado y pulmón llevando a caldo cerebro corazón por 24 horas a incubación a 37°C

Se tomó muestras de hígado y pulmón debido a que el tipo de lesiones más frecuentes ocurren en el hígado en donde hay la presencia de focos necróticos en la superficie del parénquima hepático razón por las cuales son en donde más frecuentemente se aíslan las bacterias (Layme et al., 2011).

4.8.6. Siembra Agar MacConkey

Por medio de una asa se tomó una muestra del pool de órganos previamente enriquecido (Alban, 2007) y se sembró en agar MacConkey, Llevándolo a incubación a 37°C durante 24 h (Group, 2009)

Después de las 24h se observó el crecimiento de colonias en el agar.

4.8.7. Tinción Gram

De las colonias presentes en agar MacConkey, se realizó la tinción Gram para lo cual se colocó una gota de agua destilada sobre el porta objetos, posteriormente se tomó una colonia y se lo colocó en el porta objetos, luego se lo dejó secar por 30min, después se colocó violeta de genciana por 60 segundos y se lo escurrió con agua, luego se aplicó el mordiente (yodo) por 60 segundos se lo escurrió y se colocó alcohol por 10 segundos, se lo escurrió y finalmente se colocó safranina por 40 segundos, se lo escurrió para su posterior observación por el lente de inmersión, (100x)

4.8.8. Sistema Microgen

Se identificó las colonias presentes, y se inoculó en las tiras de prueba del micro pocillo GN A. Para ello se esterizaron tubos de 3ml luego y en cada uno se colocó solución salina al 0.85% más la colonia problema y se mezcló. Posteriormente con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril de plástico se añadió 3 gotas de la suspensión bacteriana a cada pocillo de la tira de prueba de micro pocillos. Después se adicionó aceite mineral en los pocillos 1,2,3 y 9 estos se destacan por tener un círculo negro alrededor. Por último, se selló la parte superior de la tira de la prueba del micropozo, con la cinta adhesiva retirada, antes de incubar a 37°C se aseguró que las perforaciones en la cinta se encuentren sobre los pocillos 7,11y 12. La lectura de los micro pocillos GN A se lo hicieron a las 24 horas post incubación a 37°C

4.8.9. Lectura y adición de reactivos del sistema microgen GN A

Se apuntó los resultados en los formularios proporcionados por el sistema microgen GN A. Y se procedió agregar los reactivos de la siguiente manera; se añadió 2 gotas de reactivo de Kovács al pozo 8. Se espero 60 segundos, se observó y se registró los resultados. Se añadió 1 gota de reactivo VP I y 1 gota de reactivo VP II al pocillo 10. Se espero 30min, se observó y se registró los resultados. Se añadió 1 gota de reactivo TDA al pocillo 12. Se espero 60 segundos, se observó y se registró los resultados

4.9. Identificación

En la hoja de resultados de Microgen GN A, los sustratos se organizaron en tripletes (sets de 3 reacciones) y se asignó un valor numérico a cada sustrato (1,2 o 4). La suma de las reacciones positivas para cada triplete da lugar a un único dígito, que es el perfil numérico, que se utilizó para determinar la identidad del organismo aislado. El perfil numérico obtenido se introdujo en el Software del sistema de identificación Microgen (MID-60), que genera un informe de la tipificación de los microorganismos de una base de datos selectiva.

Gráfico 2. Hoja de resultados

MICROGEN GN-ID A+B PANEL
REPORT FORM

Lab. No. 3341 Specimen Type: CHEESE SANDWICH
 Date: 28th JANUARY 2002

MICROGEN
BIOPRODUCTS

Well Number	GN A wells												GN B wells														
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
Reaction				+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Result				+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	6	0	0	0	0	0	0	0

Profile No: 67600760 Final Identification: E. coli

WF61250112

(Bioproducts, 2007)

Gráfico 3. Interpretación de resultados

Microgen™ GN A ID

WELL/NAPFCHEN GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7
Reaction	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.	Nitrate
Negative													
Positive													

(Bioproducts, 2007)

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados

Los resultados de esta investigación consistieron en la caracterización, aislamiento y tipificación de enterobacterias presentes en *Cavia porcellus*.

Tabla 7. Aislamiento bacteriano

	Muestras	%
Muestras positivas	46	38,6
Muestras negativas	73	61,4
Total	119	100

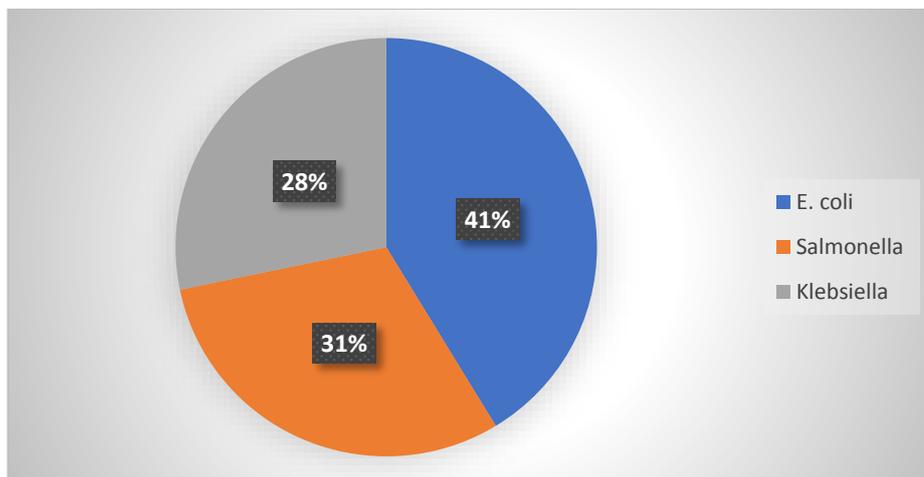
En la tabla 7 muestra resultados de aislamiento bacteriano dando como consecuencia 46 casos positivos a crecimiento bacteriano que representa un 38,6%. Cabe mencionar que cada aislamiento pertenece a un paciente.

Gráfico 4. Tinción Gram



En el grafico 4 se realizó Tinción Gram, en las cuales las bacterias presentaron la morfología en forma de barra y su característica tintorial presentó un color rosa, debido a que las bacterias gram negativas tienen una pared celular muy fina.

Gráfico 5. Muestras positivas



En el grafico 5 muestras la presencia de enterobacterias de un total de 46 muestras positivas en las cuales obteniendo las siguientes bacterias: con un mayor porcentaje, 41% *E. coli*, *Salmonella* 31% y *Klebsiella* 28%

Tabla 8. Tipificación de géneros bacterianos

BACTERIAS	N# de aislamientos	%
<i>Salmonella typhimurium</i>	9	20
<i>Salmonella spp</i>	5	11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	15
<i>Klebsiella ozaenae</i>	4	9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	4
<i>E. Coli</i>	19	41
Total	46	100

En la tabla 8; mediante la utilización sistema microgen GNA se tipificó y se determinó las enterobacterias, logrando como resultado: *E. coli* 41% *Salmonella typhimurium* 20 %, *Klebsiella pneumoniae* 15%, *Salmonella spp* 11%, *Klebsiella ozaenae* 9%, *Klebsiella oxytoca* 4%.

5.2 DISCUSIÓN

A partir de los hallazgos encontrados aceptamos la hipótesis alternativa que señala; en la asociación COMPRACUY existe la presencia de bacterias.

En el estudio se encontró las siguientes enterobacterias; *E. Coli* 41% *Salmonella typhimurium* 20 %, *Klebsiella pneumoniae* 15 %, *Salmonella spp* 11 %, *Klebsiella ozaenae* 9 %, *Klebsiella oxytoca* 4 %.

Estudios realizados por (Guamán, 2014) encontró *Salmonella typhimurium* con un porcentaje de 35% estos resultados encontraron en crianza familiar mientras que *E. Coli* con un porcentaje similar al de la investigación 40%, hay concordancia entre este estudio puesto a que en el sistema de crianza familiar comercial no existe un buen manejo sanitario ya que no implementan medidas de bioseguridad que son factores predisponentes a que se desarrolle las enfermedades. En otro estudio (Siever Morales C., 2012) realizó estudios en centros de crianza familiar comercial encontrando *Salmonella typhimurium* con un porcentaje de (16,7%), *Escherichia coli* presentó apenas un (13.3%), argumentando que la *Salmonella spp.* se encuentra como parte bacteriana de la flora normal pero dichas bacterias pueden ser patógenas cuando el animal cruce por eventos de estrés que causan problemas de inmunosupresión y que condicionan una mayor vulnerabilidad a enfermarse, siendo la salmonelosis la enfermedad más importante, causante de índices de morbilidad y mortalidad

Mientras que (Pettersson, 2014) en el sistema de crianza familiar encontró un porcentaje no significativo *Escherichia coli* y *Klebsiella*, debido a que en su estudio utilizó métodos para la determinación de *Salmonella*, ya que es el mayor problema que afecta a los conejillos de indias, estas bacterias pueden transmitirse por otros animales portadores tales como ratas y ratones debido a que en una granja de tipo familiar no existen medidas que disminuyan esta fuente de entrada, ya que son factores predisponentes para que estas bacterias puedan volverse patógenas , En otro estudio (Layme et al., 2011) tipificaron un 64 .8% de *Salmonella* estos resultados son un poco elevados a la de la investigación debido a que ellos detectaron en animales con lesiones a nivel hepático por *Salmonella*

Además (Ortega et al., 2015) encontraron un 8.5% de *Salmonella* en granjas cuya tasa de mortalidad era de 2.5% siendo la salmonelosis responsable del 20% de estas muertes, determinando que la mortalidad está influenciado por este patógeno. Por otro lado (Castro et al., 2017) en sus estudios en una granja de crianza comercial identificaron *S. typhimurium* en cuyes aparentemente sanas argumentando que es el patógeno predominante en cuyes reproductoras al primer parto, en estados de estrés este patógeno se vuelve potencialmente peligroso ocasionando abortos y muertes de los cuyes

De igual forma (Geraldine, 2015) en estudios realizados encontró *S. typhimurium* y *Enteritidis*. estos resultados fueron de cuyes muertos con signos clínicos y lesiones anatómicas sugerentes de salmonelosis. Estudios realizados por (Matsuura et al., 2010) encontró un alto índice de *Salmonella entérica* con un 66.5% este alto índice de presentación de la infección es influenciado por factores como la virulencia del microorganismo, la condición del hospedero y el medio ambiente, la intensidad de la infección puede deberse al estado inmunológico. Se puede llegar a concluir que la *Salmonella* y la *E. Coli*, es un agente que provoca casos de morbilidad y mortalidad ocasionando pérdidas al productor.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1 CONCLUSIONES

Basado en los resultados de nuestro trabajo se arriba a las siguientes conclusiones:

Solamente el 38,6 % de las muestras tomadas presentaron aislamientos bacterianos en el pool de órganos de necropsia.

El microorganismo tipificado que con mayor frecuencia se aisló de las muestras fue la *E. coli* 41% *Salmonella typhimurium* 20 %, *Klebsiella pneumoniae* 15%, *Salmonella spp* 11%, *Klebsiella ozaenae* 9%, *Klebsiella oxytoca* 4%.

Se determinó mediante encuestas a los productores de la Asociación COMPRACUY de Huachi Grande que cuentan con un sistema de crianza familiar, debido a que todos los socios cuentan con un máximo de 400 animales ; esto implica hembras y machos reproductores gazapos, reemplazos y animales de cepa.

6.2 BIBLIOGRAFIA

- Acosta, F. (2016). “*Caracterización de salmonella (salmonella spp) en huevos frescos de gallinas mediante la utilización del sistema microgen gn a en la parroquia cotaló.*” Retrieved from [http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/24288/1/Tesis Medicina Veterinaria y Zootecnia -CD 436.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/24288/1/Tesis%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20436.pdf) 68
- Alban, I. (2007). Biocontrol de Salmonella enteritidis en aves mediante el uso de bacteriófagos.
- Avezón, S. (2009). *Perfil bacteriológico en una colonia de cobayos de bioterio.* Universidad de Chile. Retrieved from <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/131560>
- Aychai, R. (2007). Escherichia coli causante de enfermedades en animales domésticos. *Microbiology*, 1–20. Retrieved from <https://es.scribd.com/doc/6389472/Escherichia-Coli-causante-de-enfermedades-en-animales-domesticos>
- Barreto, C., Batista, K., Alves, S., & Bezerra, L. (2001). Determinación de enterobacterias de mamíferos silvestre en criadero conservacionista. *Revista de Biología E Ciências Da Terra*, 11(2), 74–80. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=50021611010>
- Becton, D. (2013). Brain Heart Infusion, (April), 24–26.
- Bioproducts, M. (2007). Microgen TM GnA+B-ID System, 20.
- Carranza, C., León, R., Falcón, N., Neumann, A., & Kromm, C. (2012). Caracterización y distribución de cepas de escherichia coli potencialmente patógenas aisladas de pollos broiler de explotaciones avícolas en el Perú characterization and distribution of potentially avian pathogenic escherichia coli isolates from broilers. *Rev Inv Vet Perú*, 23(2), 11. Retrieved from <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v23n2/a11v23n2.pdf>
- Castro, G., Maturrano. (2017). Identificación Molecular de Salmonella Typhimurium en Cuyes al Primer Parto mediante la Técnica de PCR Múltiple.

- Chuquizuta, C. (2016). *Identificación de agentes bacterianos patógenos aislados de gazapos muertos de cuyes en una granja de crianza intensiva en Lima, Perú. Universidad Científica del Sur.* Universidad Científica del Sur. Retrieved from <http://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/UCS/239>
- FAO. (1997). *Producción de cuyes (Cavia porcellus).* Retrieved from <http://www.uap.edu.pe/intranet/fac/material/04/20102BT040104441040107011/20102BT04010444104010701118116.pdf>
- Fernández, E., Suniaga, C., & Ysasis, A.,(2014). Características Tintoriales de Neisseria gonorrhoeae por la tinción diferencial de fluorescencia modificada. *SABER. Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación de La Universidad de Oriente*, 26(3), 281–288. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739473007>
- Ferreira, H. H., Zlotowski, P., Watanabe, T. T. N., Gomes, D. C., Cardoso, M. R. I., & Driemeier, D. (2011). Natural infection by Listeria monocytogenes in guinea pigs (Cavia porcellus) . *Infecção Natural Por Listeria Monocytogenes Em Cobaios Cavia Porcellus*, 41(4), 682–685. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79957600699&partnerID=40&md5=87704f031aeca956c16beab0ebd5082c>
- Figueiredo De Castro Nassar, A., Daniel, G. T., Ruiz, R., Miyashiro, S., Scannapieco, E.,Nassar, A. F. C. (2015). Diagnostic comparison of Corynebacterium pseudotuberculosis through microbiological culture and PCR in sheep samples. *Arq. Inst. Biol. Arq. Inst. Biol*, 8282, 1–6. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000692013>
- Geraldine, M. (2015). Identificación de Salmonella enteritidis y Typhimurium aislada de cuyes mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa múltiple, 66.
- Gomes,B., Batista, K. da S., Oliveira, S. A., & Bezerra, L. M. (2001). Determinación de enterobacterias de mamíferos silvestres en criadero conservacionista. *Revista de Biología E Ciências Da Terra*, 11(2), 74–80. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=50021611010>
- Group, M. (2009). MacConkey agar. *Proteus*, 2–3.
- Guamán, M. (2014). Determinación del género y especie de Salmonella en cuyes

mestizos en diferentes sistemas de crianza en la comunidad de Oñacpac del Cantón Saraguro. *Tesis Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca*, 91.

Guevara, J., Rojas, S., Carcelén, F., Bezada, S., & Arbaiza, T. (2016). Parámetros Productivos de Cuyes Criados con Dietas Suplementadas con Aceite de Pescado y Semillas de Sacha Inchi. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú, RIVEP*, 27(4), 715–721. <https://doi.org/10.15381>

INIAP. (2016). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) capítulo i: generalidades. Retrieved from http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manual_cuyes.pdf

Jaramillo, H., Patiño, R., & Rodríguez, J. (2009). Detección de *Yersinia pseudotuberculosis* en heces de cuyes (*Cavia porcellus*) utilizando una metodología microbiológica y una molecular. *Revista Corpoica Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 9(2), 62. https://doi.org/10.21930/rcta.vol9_num2_art:119

Jiménez, G., Hoyos, Y., Rodríguez, J., Navarro, J. ., & Gutiérrez, J. (2016). Método rápido para la detección de la sensibilidad a cefotaxima en enterobacterias. *Rev Argent Microbiol*, 48(4), 320–324. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.002>

Jiménez, M., Shakti, M., & Benítez, M. (2010). Identificación y caracterización de una bacteria degradadora de parafinas. *Usb.Edu.Mx2*, 5, 51–60.

Jurado Gómez, H., Calpa Yana, F., & Chspuengal Tulcan, A. (2014). Determinación in vitro de la acción probiótica de *Lactobacillus plantarum* sobre *Yersinia pseudotuberculosis* aislada de *Cavia porcellus*, 61(3), 17. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.15446/rfmvz.v61n3.46872> Investigación

Laboratorios Britania. (2001). Cerebro Corazón Infusión, 1–2. Retrieved from <http://britanialab.com.ar/esp/productos/b02/cerebcorinfus.htm>

Laboratorios Britania. (2015). Mac Conkey Agar. *Laboratorios Britania*, 1–2. Retrieved from http://www.britanialab.com/productos/B23114_REV_01-MAC_CONKEY_AGAR.pdf

Layme, A., Perales, R., Chavera, A., Gavidia, C., & Calle, S. (2011). Lesiones anatomopatológicas en cuyes (*cavia porcellus*) con diagnóstico bacteriológico de

- salmonella sp. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 22(4), 369–376.
- Lazo, P., Llorens, B. F., Gonzalez, G. J., Valdés, M. R., Maroto, M. L., & Ruíz, A. G. (2015). Caracterización sanitaria de la salmonelosis porcina en un territorio de la República de Cuba. Retrieved from http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo452.pdf
- López, M., Chamorro, B., Hernández, O., Arteaga, E., Báez, F., & Enríquez, C. (2003). Explotacion Tecnificada de Cuyes - Google Libros. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=lfTO8t5nkNoC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Luis Raggi. (2009). *Cavia Porcellus o Cobayo - Mascotas Foyel. mascotas foyel. Chile.* Retrieved from http://www.foyel.com/paginas/2009/05/474/cavia_porcellus_o_cobayo/
- Maps, G. (2017). Huachi Grande - Google Maps. Retrieved December 4, 2017, from <https://www.google.com.ec/maps/place/Huachi+Grande,+Ambato/@-1.3097488,-78.6476424,1609m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91d3828e87a348e1:0x241ffbe7aa7465a0!8m2!3d-1.3075411!4d-78.6384552?hl=es>
- Matsuura, A., Morales, S., Calle, S., & Ara, M. (2010). Suceptibilidad a antibacterianos in vitro de Salmonella enterica aislada de cuyes de crianza familiar comercial en la Provincia de Carhuaz, Áncash, 21, 93–99.
- MDM, C. (2010). Agar MacConkey.
- Mejia, D. (2012). *Aplicación de Métodos Microbiológicos en Planta de Sacrificio para la Detección de Salmonella spp. en Canales Porcinas. Una ética para quantos?* Universidad Javerriana Facultad de ciencias Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Olvera, R. L., & Rosales, S. . . A. (2013). Capacidad de la tinción de hematoxilina-Eosina para detectar y diferenciar la morfología bacteriana a partir del diagnóstico histológico de camarón. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 14(11), 1–8. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63632378005>
- Ortega, G., Jiménez, R., Ara, M., & Morales, S. (2015). La Salmonelosis como factor

- de riesgo de mortinatalidad en cuyes. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú, RIVEP*, 26(4), 676–681. <https://doi.org/10.15381>
- Oxoid. (2010). Brain Heart Infusion. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, (April), 2623–42.
- Parra, M., Durango, J., Máttar, S., & De Tema, R. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Mvz-Córdoba*, 7(2), 187–200.
- Pettersson, E. (2014). Salmonellosis in Peruvian guinea pig production A study to evaluate the prevalence of salmonella spp and importance of the disease.
- Ramírez, A. R., Rojas, Q. C. S. B., & General, E. E. M. (2010). Escherichia coli., 1–14. Retrieved from <http://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/escherichia-coli-i.pdf>
- Ramírez, R., Rincón, D., & Vargas, J. (2014). Salmonella Enteritidis en huevos de gallina comercializados en Tunja (Colombia) Salmonella Enteritidis in chicken eggs commercialized in Tunja (Colombia) Salmonella Enteritidis em ovos de galinha comercializados em Tunja (Colombia), 2, 22–27.
- Ramsey, I. k., & Tennant, B. J. (2012). *Enfermedades infecciosas en pequeños animales*. (E. S, Ed.) (1ra.). Barcelona-España: impreso en España.
- Ruiz, N., Calle, S., & Gálvez, H. (2010). Identificación de Salmonella sp. en tortugas motelo (*Geochelone denticulata*) de un criadero de la ciudad de Iquitos. *Rev Inv Vet Perú*, 21(1), 4.
- Siever Morales C. (2012). Patógenos oportunistas por transmisión fecal-oral en cuyes reproductores introducidos al distrito de San Marcos. *Revista de La Universidad Científica Del Sur* , 9, 33–38. Retrieved from https://www.cientifica.edu.pe/sites/default/files/cientifica9_1.pdf
- Soria, D. (2009). Ficha Técnica : Macconkey Agar Placa De, 5–8.
- Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Echevería, M., Leardini, N., & Copes, J. (2007). *Microbiología Veterinaria* (1st ed., p. 572). Buenos Aires: Inter-Médica.

Wright, P. F. (1992). Sanidad animal: Apoyo mundial para el diagnóstico de enfermedades. Retrieved from https://www.iaea.org/sites/default/files/34406483438_es.pdf

6.3 ANEXOS

PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Gráfico 6. Porcentaje de bacterias presentes

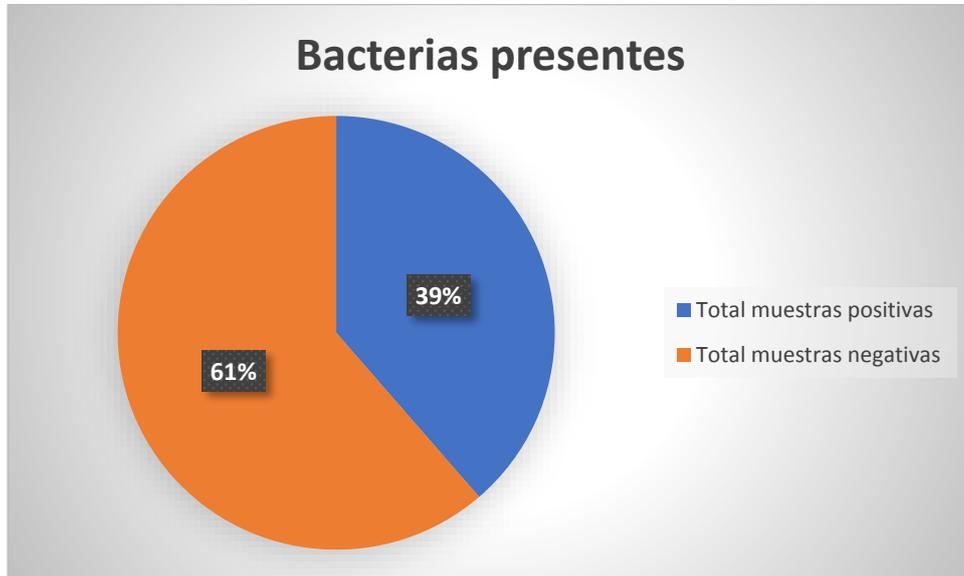


Gráfico 7. Tipificación de salmonella

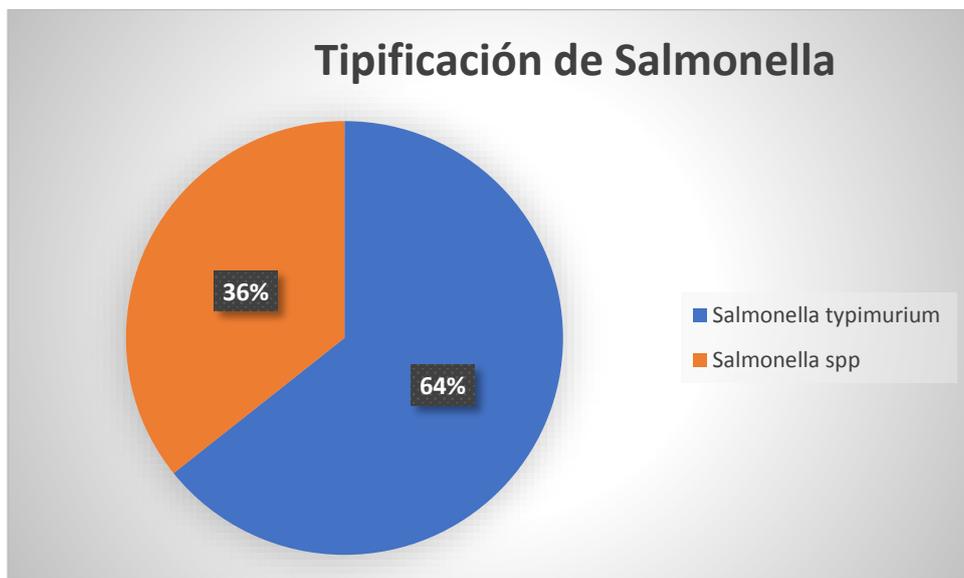


Gráfico 8. Tipificación de *Klebsiella*

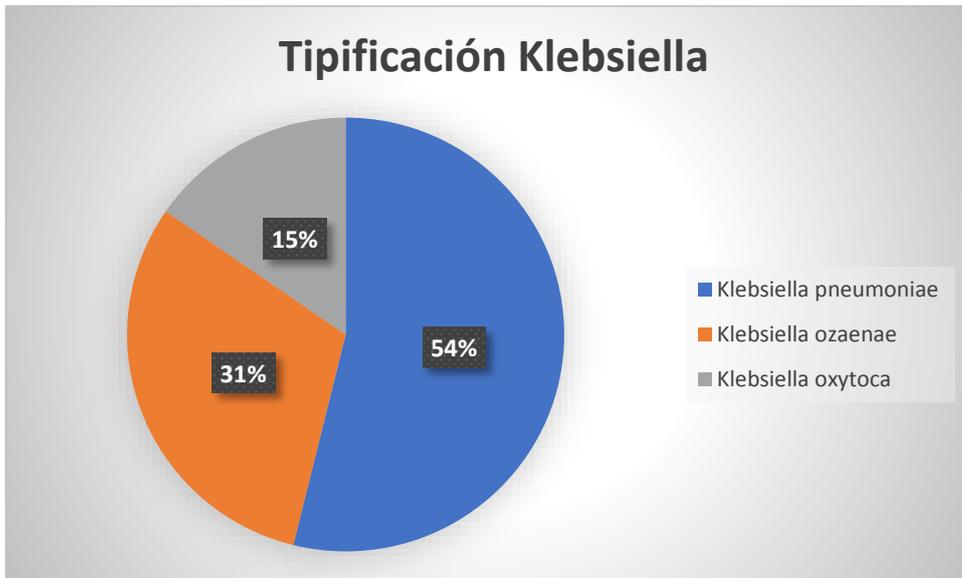


Gráfico 9. Medio para el crecimiento y el aislamiento de bacterias



Gráfico 10. Necropsia del cuy (*Cavia porcellus*)



Gráfico 11. Tipificación de bacteria, *Salmonella*

GN-ID A+B PANEL REPORT FORM

Lab. No. _____ Specimen Type: *C. porcellus*

Date: 30/06/2013

Well Number	GN A wells												GN B wells															
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Oxithione	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Inocul	Urease	VP	Citrate	TDA	Gelatin	Maltose	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Aspartate	Raffinose	Silicon	Arginine	
Reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Result	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	
Reaction Index																												
Sum of Positive Reactions				5			7			2				6														

Octal Code: 53 26 Final Identification: *Salmonella*

Gráfico 12. Tipificación de bacterias, *Salmonella typhimurium*

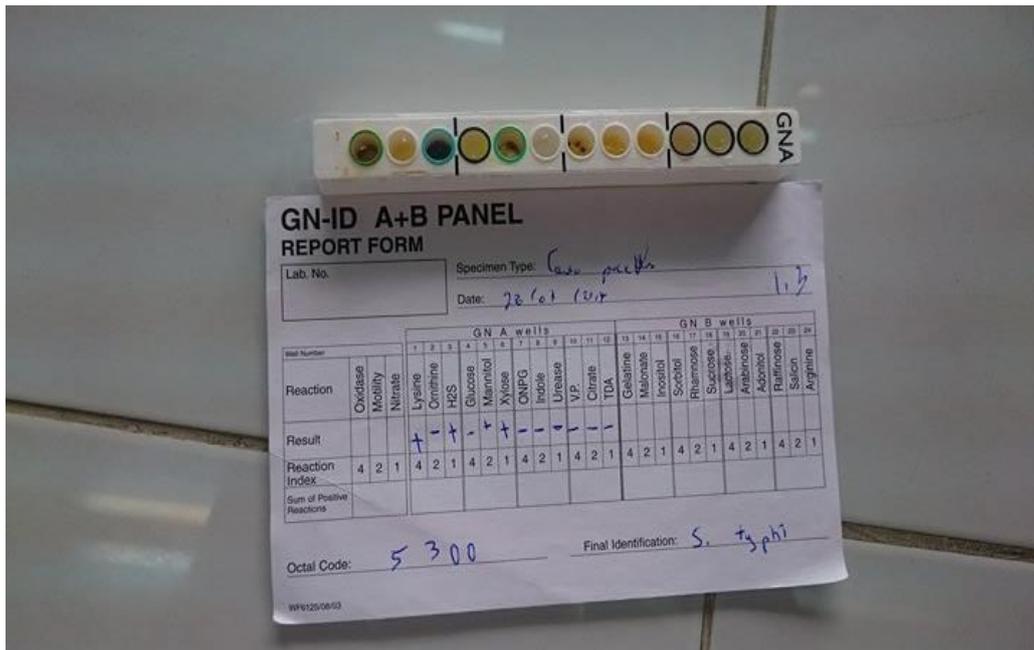


Gráfico 13. Tipificación de bacterias, *Escherichia coli*

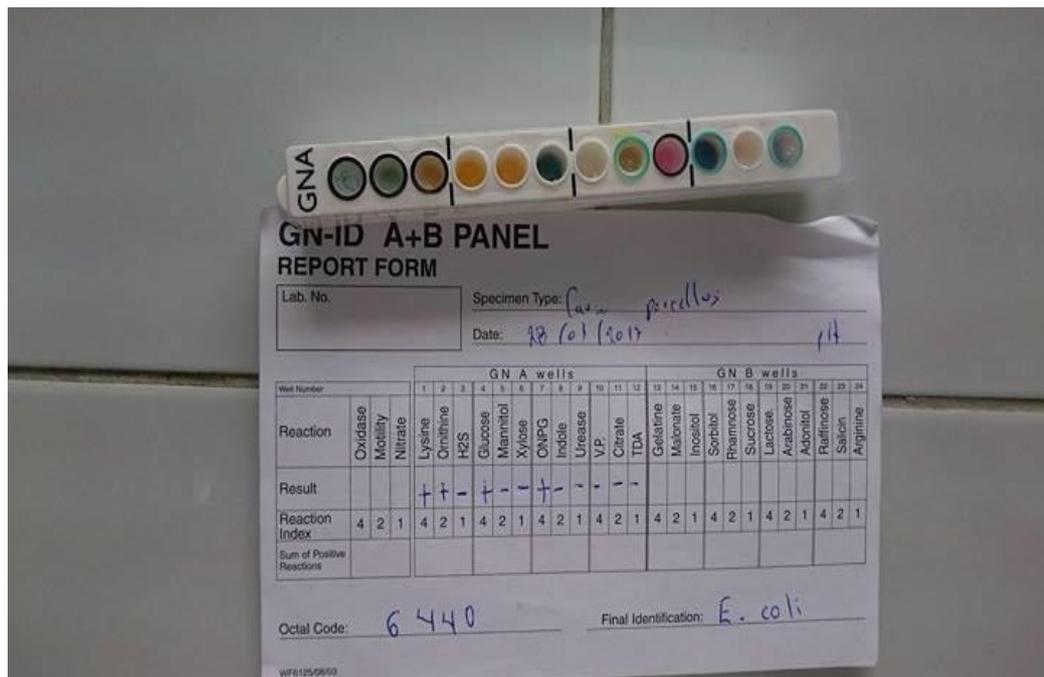


Gráfico 14. Tipificación de bacterias, *Klebsiella ozaenae*

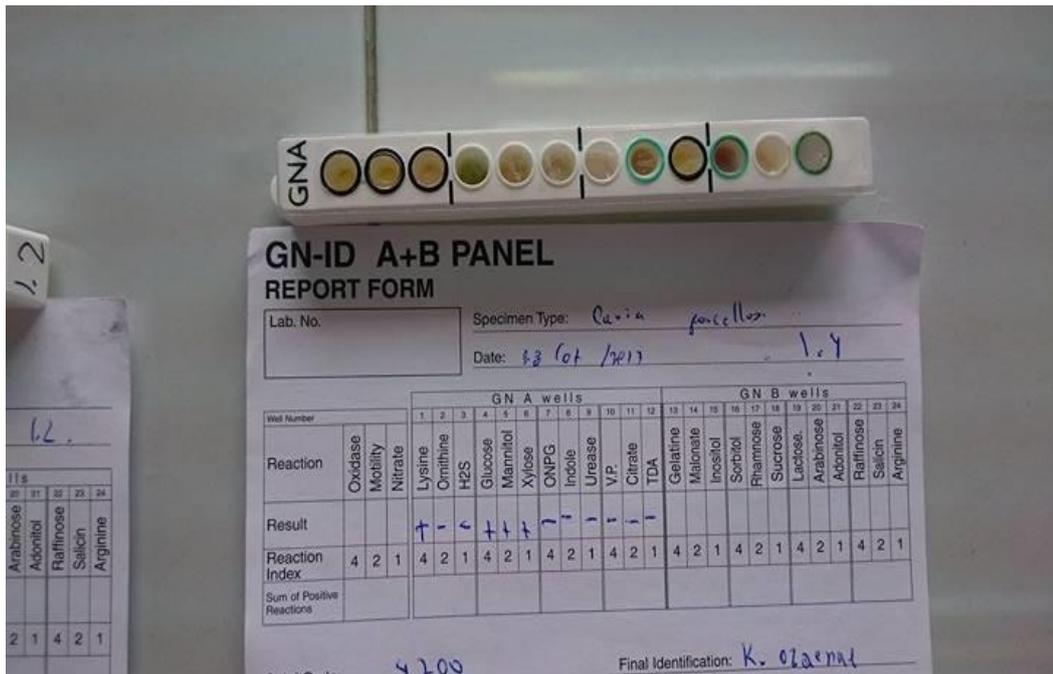
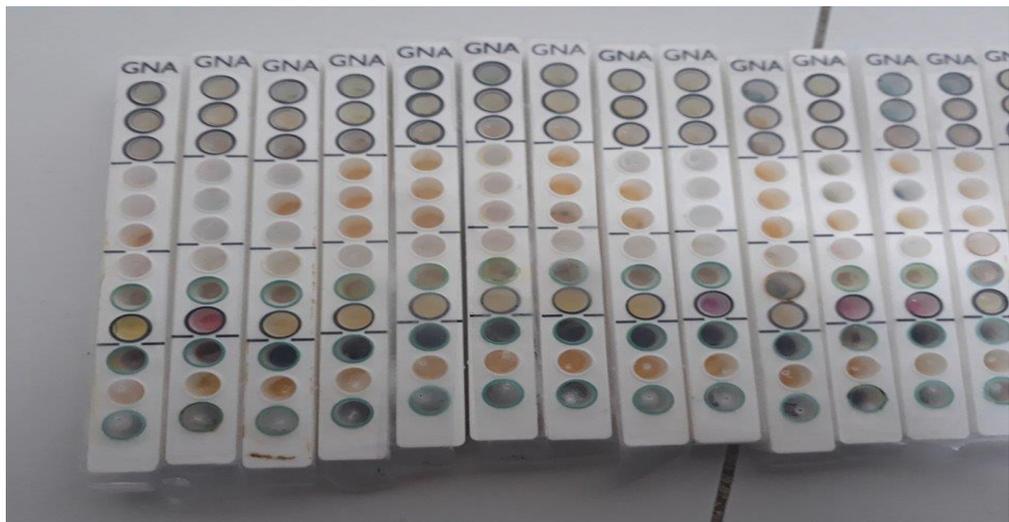


Gráfico 15. Muestras aisladas y tipificadas





CAPITULO VII

PROPUESTA

Implementación de medidas de bioseguridad para disminuir la carga bacteriana en la explotación de cuyes.

7.1 DATOS INFORMATIVOS

La asociación COMPRACUY ubicada en Huchi Grande perteneciente al cantón Ambato provincia de Tungurahua será la encargada de difundir a los productores sobre los resultados obtenidos de esta investigación. Y sus medidas para evitar la propagación bacteriana

7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Debido a que en esta investigación se encontró gran número de enterobacterias entre las que se destacan las siguientes; *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*.

El cuy como cualquier especie es susceptible a sufrir enfermedades infecciosas, pudiendo ser ellas de diversa naturaleza. El riesgo de enfermedad es alto, pero factible de ser prevenida con adecuada tecnología en la explotación. La enfermedad, de cualquier etiología, deprime la producción del criadero, traducándose en pérdidas económicas.

7.3 JUSTIFICACIÓN

Al existir un desconocimiento, por parte de las personas que se dedican a la crianza de cobayos, sobre las enfermedades bacterianas que afectan a estos animales. Y al existir bacterias presentes en esta asociación tales como; *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*. Es importante implementar medidas que disminuyan la propagación bacteriana, con la finalidad de reducir la mortandad en cobayos y evitar pérdidas económicas al productor por enfermedades bacterianas.

7.4 OBJETIVOS

Mejorar la bioseguridad en las granjas cavícolas de la asociación compracuy.

7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Al ser una asociación que está en desarrollo, pero desconoce sobre enfermedades bacterianas que provocan pérdidas económicas es ideal la implementación de medidas que disminuyan la propagación bacteriana, por ende, disminuye la patogenicidad del agente causal, con la finalidad de que el productor no pierda a los animales.

Al comparar los animales que se puedan salvar, por implementar una buena bioseguridad, el costo en lo que se refiere a la aplicación de estas medidas, no será algo que sea representativo, ya que, si se maneja bien, la manera de prevenir y como tratar la enfermedad, se ahorrará el bolsillo del productor, puesto que se trata de disminuir las pérdidas por muertes de los animales

7.6 FUNDAMENTACION

Al existir presencia de bacterias gram negativas como; *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*, que afectan la salud del paciente provocando la muerte y pérdidas económicas es necesario la aplicación de medidas de bioseguridad, por ende, bajar al máximo cargas bacterianas evitando que la enfermedad se propague. Además, se puede proporcionar un tratamiento adecuado con la finalidad de evitar resistencia antibacteriana.

7.7. METODOLOGÍA

El programa de bioseguridad contempla los siguientes aspectos:

- Características de construcción de la granja
- Control de animales extraños a la explotación (animales salvajes, ratas, ratones, aves, etc.)
- Limpieza y desinfección periódica en general de la explotación (incluye, galpones, bebederos, comederos, etc.)
- Control de visitas y personal ajeno a la explotación
- Evitar el estrés
- Controlar programas de vacunación
- Controlar el tipo de medicamentos en el caso de utilizarlos

- Control de cadáveres y manejo de compost, etc.

1 Características de construcción de la granja

Los galpones deben tener:

- Ventilación, para controlar humedad y contaminación
- Temperatura adecuada, lo ideal son 32°C. Evitar cambios bruscos con cortinas
- Orientación, norte sur para aprovechar el calor solar y mantener la temperatura
- El galpón debe de ser de 2 metros y medio de alto, cuando está a 2.800 metros sobre el nivel del mar
- Cuando está a más de 3.200 metros sobre el nivel del mar, debe tener solo 2 metros de alto
- Pozas de empadre y maternidad, de 1,50 x 1,00 m que pueden albergar un total de 10 a 15 hembras por macho. Si las hembras son grandes (peso promedio de 1000 a 1400 g) la capacidad es para 10 hembras y si son medianas o pequeñas (peso promedio de 750 a 1000 g) la capacidad es para 15 hembras.
- Las pozas de recría, miden 1,00 x 0,70 m y pueden albergar 10 animales, generalmente machos, en grupos. Esto significa que el área por animal es de 0,07 m². Con una densidad como la indicada y con alimentación óptima se pueden lograr incrementos de 8,5 g por cuy.
- La altura de las pozas es de 30 cm

Materiales adecuados para la construcción

- Piso de cemento, alisado para facilitar la limpieza.
- Paredes de ladrillo o bloque, encementado para mantener la temperatura.
- Techos de fibrocemento.
- Planchas translúcidas (una translúcida cada 5 metros).
- Ventanas con rejas para que no entren depredadores. Con mallas para que no entren insectos voladores, además con cortinas para mantener el calor.

2 Control de animales extraños a la explotación

Debemos tener cuidado con moscas y mosquitos, ya que son los principales vehículos transmisores de enfermedades por ende debes tener un control del mismo.

Respecto a ratas y ratones estos pueden desplazarse hasta 2km, el riesgo por llegar de estos de otra granja es alto. Se debe evitar dar balanceado contaminado con los mismos

Se puede llevar un control de ratas por medio de placebos estos se pueden colocar a fuera de la granja o en el lugar en donde se almacena el concentrado

Los pájaros también representan un riesgo potencial como vectores de patógenos

Finalmente se debe evitar la presencia en la grana de animales domésticos (Perros, Gatos)

3 Limpieza y desinfección periódica en general

- La cuyera debe estar seca y sin olores desagradables
- Limpia y desinfecta el galpón cada semana y los implementos continuamente
- Hay que cambiar las camas y desinfectarlas cada semana
- Las pozas vacías deben estar limpias y desinfectadas.
- Limpiar y desinfectar el exterior del galpón una vez al mes.
- Los basureros deben estar lejos del galpón

4 Control de visitas y personal ajeno a la explotación

En lo más posible deberíamos reducir al mínimo las visitas del personal extraño a la granja, aunque somos muy conscientes de que esto es muy difícil conseguir. Recordemos que las enfermedades infecciosas pueden propagarse de una granja a otra a través de calzado de las visitas o personal de que se mueve de granja en granja, pero debemos implementar ciertas medidas:

- A la entrada del galpón colocar un recipiente con cal, para desinfectar los zapatos
- Instalar un vertedero de agua para desinfectar las manos antes de entrar
- Llevar registro de las personas que ingresen

5 Evitar el estrés

En este sentido vigilaremos la presencia de cualquier factor estresante (olores muy fuertes de las heces fecales, presencia de personal ajeno, sobre población, etc.) ya que son factores que pueden mermar el sistema inmunitario.

- No amontonar cuyes en las pozas
- Los cuyes deben agruparse por edades para mejorar la producción y evitar peleas
- No cambiar los comederos de una poza a otra

6 Controlar programas de vacunación

Se debe implementar un programa de vacunación para las futuras madres reproductoras de cada granja ya que la vacunación ayuda a favorecer la inmunidad de los animales por ende el grado de contagio de enfermedad no son significativos.

7 Controlar el tipo de medicamentos en el caso de utilizarlos

Es muy importante identificar el agente etiológico a través de métodos en el laboratorio, con la finalidad de encontrar el agente etiológico que está causando la muerte en los cobayos, luego se debe realizar un antibiograma para emitir un medicamento ideal para tratar la enfermedad y no crear resistencia antibacteriana.

8 Control de cadáveres y manejo de compost, etc.

En el caso de existir cadáveres se recomienda incinerarlos, en cuanto a las heces fecales se puede realizar compostajes para ello se lleva el material orgánico a determinada zona para su posterior biotransformación que se desarrolla con el ánimo de evitar contaminación orgánica generando un producto (abono) apto para el beneficio del suelo.