

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**FRECUENCIA DE CAMPILOBACTERIAS TERMOTOLERANTES EN
CARCASAS Y MENUDOS DE POLLO, PROVENIENTES DE LOS
MERCADOS DE JULIACA**

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. ALAN FIGUEROA MAMANI

PARA OPTAR DE TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**FRECUENCIA DE CAMPILOBACTERIAS TERMOTOLERANTES EN
CARCASAS Y MENUDOS DE POLLO, PROVENIENTES DE LOS
MERCADOS DE JULIACA.**

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. ALAN FIGUEROA MAMANI

PARA OPTAR DE TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:

Dr. Dante Joni Choquehuanca Panclas

PRIMER MIEMBRO:

Mg. Martha Elizabeth Aparicio Saavedra

SEGUNDO MIEMBRO:

Dr. Juan José Pauro Roque

DIRECTOR(A) DE TESIS:

Dra. Roxana Del Carmen Medina Rojas

Fecha de Sustentación: 14 de junio del 2018

ÁREA : Ciencias Biomédicas
LÍNEA : Ciencias de la Salud
SUBLÍNEA : Diagnóstico y Epidemiología
TEMA : Microbiología de Alimentos

DEDICATORIA

*A mi Padre y en especial a mi madre
por su incansable labor.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad del Altiplano de Puno nuestra primera casa de estudios, a la Facultad de Ciencia Biológicas y a los docentes del área de Microbiología, por la formación académica que se nos brinda.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Doctora Roxana Del Carmen Medina Rojas, Directora de ésta tesis, por todo el apoyo tanto en lo académico, en mi trabajo y mi formación.

A la Doctora Youri Teresa, Jefa del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas UNAP y al Sr. Leónidas Tevés, siempre dispuestos a darme las facilidades para el uso del laboratorio durante el desarrollo de ésta tesis.

A mis padres, por su gran ayuda, dándome todo lo que tenían.

Agradecer, por último, a todas las personas amigos y conocidos que contribuyeron en mi formación.

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
I. INTRODUCCIÓN	14
OBJETIVOS DEL ESTUDIO	16
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. ANTECEDENTES	17
2.2. MARCO TEÓRICO	23
2.2.1. <i>Campylobacter</i>	23
2.2.1.1. Características generales	23
2.2.1.2. Taxonomía del género <i>Campylobacter</i>	23
2.2.2. <i>Campylobacter</i> en los alimentos	24
2.2.3. <i>Campylobacter</i> en la carne de pollo	24
2.2.3.1. Producción y consumo en Perú y el mundo de la carne de pollo ...	24
2.2.3.2. Clasificación en la producción del pollo de acuerdo a la procedencia	24
2.2.3.3. Productos del pollo para consumo humano	25
2.2.3.4. Contaminación de la cadena de producción y expendio del pollo por <i>Campylobacter</i>	26
2.2.3.5. Supervivencia y viabilidad de <i>Campylobacter</i> en carne de pollo ...	27
2.2.3.6. Frecuencia de <i>Campylobacter</i> en carne de pollo	29
2.2.4. Aislamiento e identificación de <i>Campylobacter</i> en carne de pollo	30
2.2.4.1. Toma de muestra	30
2.2.4.2. Cultivo	30
2.2.4.3. Pruebas de identificación	31
2.2.5. Prevención de la contaminación de <i>Campylobacter</i> en carne de pollo..	33
2.2.6. <i>Campylobacter</i> en la salud humana	34
2.2.6.1. Gastroenteritis por <i>Campylobacter</i> en el hombre	34
2.2.6.2. Secuelas postinfecciosas por <i>Campylobacter</i> en el hombre	37
2.2.6.3. Incidencia de <i>Campylobacter</i> en el hombre	37
2.3. MARCO CONCEPTUAL	38

III. MATERIALES Y MÉTODO	40
3.1. ÁREA DE ESTUDIO	40
3.2. TIPO DE ESTUDIO	40
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	40
3.5. METODOLOGÍA	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1. Identificación de las especies termotolerantes de <i>Campylobacter</i> en carcasas de pollos que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos <i>in vitro</i> y pruebas de identificación bioquímica.	51
4.2. Identificación de las especies termotolerantes de <i>Campylobacter</i> en menudos de pollos que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos <i>in vitro</i> y pruebas de identificación bioquímica	58
4.3. Estimación de la frecuencia de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter</i> <i>jejuni</i> especies en carcasas y menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales y avícolas industriales que abastecen a los mercados de la ciudad Juliaca	63
V. CONCLUSIONES	73
VI. RECOMENDACIONES	74
VII. BIBLIOGRAFÍA	75
ANEXOS	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Principales factores de virulencia de <i>Campylobacter</i> sp., y el papel que desempeñan en la patogenia de la gastroenteritis y secuelas postinfecciosas	35
Tabla 2.	Características bioquímicas de las especies termotolerantes de <i>Campylobacter</i>	47
Tabla 3.	Especies de <i>Campylobacter</i> termotolerante* en carcasas de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	51
Tabla 4.	Intervalos de confianza (95%) de porcentajes positivos de especies de <i>Campylobacter</i> en carcasas de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	52
Tabla 5.	Especies de <i>Campylobacter</i> termotolerante en carcasas de pollo expendidos en cinco mercados de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	56
Tabla 6.	Especies de <i>Campylobacter</i> termotolerante* en menudos de pollo (hígados y mollejas) de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	58
Tabla 7.	Intervalos de confianza (95%) de porcentajes positivos de especies de <i>Campylobacter</i> en menudos de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	59
Tabla 8.	Especies de <i>Campylobacter</i> en menudos de pollo expendidos en cinco mercados de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017...	62
Tabla 9.	Frecuencia de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en carcasas de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales, de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017...	63
Tabla 10.	Frecuencia de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en carcasas de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	66

Tabla 11.	Prueba de Ji cuadrado (X^2) de la frecuencia de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en carcasas de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017.....	67
Tabla 12.	Frecuencia de especies <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en menudos de pollo (hígados y mollejas) según procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	69
Tabla 13.	Frecuencia de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en menudos de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	71
Tabla 14.	Prueba de Ji cuadrado (X^2) de la frecuencia de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en menudos de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Porcentaje de especies de <i>Campylobacter</i> en carcasas de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017.....	51
Figura 2.	Porcentaje de especies de <i>Campylobacter</i> en menudos de pollo (hígados y mollejas) de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017.....	59
Figura 3.	Frecuencia en porcentajes de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en carcasas de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	64
Figura 4.	Frecuencia en porcentajes de especies de <i>Campylobacter coli</i> y <i>Campylobacter jejuni</i> en menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017	69
Figura 5.	Ubicación de los mercados Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Manco Capac, Pedro Vilcapaza y Plaza Las Mercedes de la ciudad de Juliaca (setiembre, 2016)	84
Figura 6.	Puestos de expendio del mercado Santa Bárbara (setiembre, 2016)	85
Figura 7.	Puestos de expendio del mercado Túpac Amaru II (setiembre, 2016)..	86
Figura 8.	Puestos de expendio del mercado Pedro Vilcapaza (setiembre, 2016)..	87
Figura 9.	Puestos de expendio del mercado Manco Capac (setiembre, 2016)	88
Figura 10.	Puestos de expendio mercado Plaza Las Mercedes (setiembre, 2016)..	89
Figura 11.	Muestras de pollos en bolsas de plástico estériles. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	94
Figura 12.	Placas de agar Skirrow en la jarra de anaerobiosis y siendo incubadas a 42°C. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).....	94
Figura 13.	Crecimiento de colonias en medio agar Skirrow. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	95

Figura 14. Microscopia de las láminas coloreadas con tinción de Gram modificada. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	95
Figura 15. Reacción positiva de la prueba de catalasa, obsérvese el desprendimiento de burbujas. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	96
Figura 16. Reacción positiva a la prueba de oxidasa. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	96
Figura 17. Reacción positiva a la prueba de reducción de nitratos, obsérvese el color rojo (izquierda) y la reacción negativa sin cambio de color (derecha). Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	96
Figura 18. Reacción positiva a la prueba de hidrólisis del hipurato (izquierda) y reacción negativa (derecha). Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	96
Figura 19. Prueba de susceptibilidad antibiótica con discos de ácido nalidixico (sensible) y cefalotina (resistente) en agar Mueller Hinton: obsérvese la resistencia a ambos antibióticos Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	97
Figura 20. Prueba de susceptibilidad antibiótica con discos de ácido nalidixico y cefalotina en agar Mueller Hinton: obsérvese la resistencia a ambos antibióticos. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017)	97

ABREVIATURAS

EDA	Enfermedad diarreica aguda.
ETA	Enfermedad de transmisión alimentaria.
AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.
MINAG	Ministerio de Agricultura.
MINAGRI	Ministerio de Agricultura y Riego.
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal.
WHO/OMS	Organización Mundial de la Salud.
NTP	Norma técnica peruana.
CDT	Toxina de distención citoletal.
LPS	Lipopolisacarido.
T°	Temperatura.
g	Gramos.
mg	Miligramos.
°C	Grados Celsius.
ufc	Unidades formadoras de colonias.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo estimar la frecuencia de *Campylobacterias* termotolerantes en carcasas y menudos de pollo, que se expenden en los mercados de la ciudad Juliaca entre setiembre del 2016 a enero del 2017. Donde se recolectaron 54 muestras de carcasas de pollo y 81 de menudos de pollo (hígado y molleja), de los cuales 23 carcasas proceden de avícolas artesanales y 31 de avícolas industriales, en menudos 30 proceden de avícolas artesanales y 51 de avícolas industriales. Las muestras se procesaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, cultivándose en agar sangre de Skirrow modificado, en microaerofilia a 42°C por 48 horas, se identificaron las especies de *Campylobacter* termotolerantes mediante pruebas bioquímicas: catalasa, oxidasa, reducción de nitratos, hidrólisis del hipurato, susceptibilidad al ácido nalidixico y cefalotina, para el análisis de datos se utilizó estadística descriptiva y la prueba de ji cuadrado (X^2) de asociación ($\alpha=0,05$). Los resultados obtenidos en carcasas de pollo fueron: *C. jejuni* (20,37%; 11/54), *C. coli* (5,56%; 3/54) y *C. lari* (1,85%; 1/54), donde la distribución por mercados para *C. jejuni* predominó en Santa Bárbara (7,41%) y Túpac Amaru II (7,41%), para *C. coli* fue mayor en Santa Bárbara (3,7%) y *C. lari* en Túpac Amaru II (1,85%). Los resultados en menudos de pollo fueron: *C. jejuni* (4,94%; 4/81), *C. coli* (4,94%; 4/81) y *C. lari* (1,23%; 1/81), donde la distribución por mercados para *C. jejuni* predominó en Plaza las Mercedes (2,47%), *C. coli* fue mayor en Santa Bárbara (2,47%) y *C. lari* en Túpac Amaru II (1,23%). La frecuencia de *C. jejuni* en carcasas de pollo procedente de avícolas artesanales fue 16,67% (9/23) y de avícolas industriales fue 3,7% (2/31), existiendo diferencia ($p=0,003$) y la frecuencia de *C. coli* en carcasas de pollo procedente de avícolas artesanales fue de 3,7% (2/23) y de avícolas industriales fue 1,85% (1/31), no existiendo diferencia ($p=0,386$), de acuerdo a los mercados mostró diferencia en carcasas de procedencia artesanal respecto al industrial ($p=0,046$) en Manco Capac (3,7%) ambos de procedencia artesanales, también fue más frecuente en Santa Bárbara (1,85%) pero de procedencia industrial. La frecuencia de *C. jejuni* en menudos de pollo procedentes de avícolas artesanales fue 4,94% (4/30) y de avícolas industriales fue 0,0% (0/51), existiendo diferencia ($p=0,007$) y la frecuencia de *C. coli* en menudos procedentes de avícolas artesanales fue 4,94% (4/30) y de avícolas industriales fue 0,0% (1/25), existiendo diferencia ($p=0,007$), de acuerdo a los mercados mostró diferencia en menudos de procedencia artesanal respecto al industrial ($p=0,009$) en Plaza las Mercedes (2,47%).

PALABRAS CLAVE: *Campylobacter*, carcasa, menudos, mercado, pollos de procedencia artesanal, pollos de procedencia industrial, termotolerante, zoonosis.

ABSTRACT

The objective of the research was to estimate the frequency of thermotolerant *Campylobacter* in carcasses and chicken giblets, which are sold in the markets of the city of Juliaca between September 2016 and January 2017. Where 54 samples of chicken carcasses and 81 of chicken giblets (liver and gizzard) were collected, of which 23 carcasses come from artisanal poultry and 31 from industrial poultry, in minor 30 come from artisanal poultry and 51 from industrial poultry. The samples were processed in the Microbiology laboratory of the Faculty of Biological Sciences of the National University of the Altiplano of Puno, cultivated on modified Skirrow blood agar, in microaerophilous at 42°C for 48 hours, the thermotolerant *Campylobacter* species were identified by biochemical tests : catalase, oxidase, nitrate reduction, hydrolysis of hippurate, susceptibility to nalidixic acid and cephalothine, for the analysis of data descriptive statistics and the chi-square test (X^2) of association ($\alpha = 0,05$) were used. The results obtained in chicken carcasses were: *C. jejuni* (20,37%; 11/54), *C. coli* (5,56%; 3/54) and *C. lari* (1,85%; 1/54), where market distribution for *C. jejuni* predominated in Santa Bárbara (7,41%) and Túpac Amaru II (7,41%), for *C. coli* it was higher in Santa Bárbara (3,7%) and *C. lari* in Túpac Amaru II (1,85%). The results in chicken giblets were: *C. jejuni* (4,94%; 4/81), *C. coli* (4,94%; 4/81) and *C. lari* (1,23%; 1/81), where distribution by markets for *C. jejuni* predominated in Plaza las Mercedes (2,47%), *C. coli* was higher in Santa Bárbara (2,47%) and *C. lari* in Túpac Amaru II (1,23%). The frequency of *C. jejuni* in chicken carcasses from artisanal poultry was 16,67% (9/23) and of industrial poultry was 3,7% (2/31), there being a difference ($p = 0,003$) and the frequency of *C. coli* in chicken carcasses from artisanal poultry was 3,7% (2/23) and industrial poultry was 1,85% (1/31), there being no difference ($p = 0,386$), according to the markets showed differences in cases of artisanal origin compared to industrial ($p = 0,046$) in Manco Capac (3,7%), both of artisan origin, it was also more frequent in Santa Bárbara (1,85%) but of industrial origin. The frequency of *C. jejuni* in chicken nuggets from artisanal poultry was 4,94% (4/30) and from industrial poultry was 0,0% (0/51), there being a difference ($p = 0,007$) and the frequency of *C. coli* in small pieces from artisanal poultry was 4,94% (4/30) and industrial poultry was 0,0% (1/25), existing difference ($p = 0,007$), according to the markets showed difference in giblets of artisanal origin compared to the industrial one ($p = 0,009$) in Plaza las Mercedes (2,47%).

KEY WORDS: *Campylobacter*, carcasses, giblets, market, chickens of traditional (artisanal) origin, chickens of industrial origin, thermotolerant, zoonosis.

I. INTRODUCCIÓN

Éste trabajo de investigación se refiere a un grupo de bacterias del género *Campylobacter* que en los últimos años cobró una gran importancia en el mundo, estos son agentes patógenos causante del síndrome diarreico agudo o enfermedades diarreicas agudas (EDAs) en el ser humano, también se denomina a la enfermedad como campilobacteriosis. Las bacterias del género *Campylobacter* constituye un importante problema en la salud pública. Según el informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), en el 2010 estima que a nivel mundial se registró entre 400 y 500 millones de casos de enfermedad producidos por las bacterias del género *Campylobacter* (AESAN, 2012), cifras que se equiparan y superan a otras bacterias causantes de EDAs. Las especies implicadas en el síndrome diarreico agudo en el hombre son *C. jejuni* (89-96%) y en menor proporción por *C. coli* (4-11%) (Acha y Szyfres, 2001), además de generar enfermedades neurológicas postinfecciosas como el síndrome de Guillain-Barre y el síndrome de Miller-Fisher (Hernández, 2007).

La campilobacteriosis se transmite al el hombre por los alimentos, atribuyéndose la mayoría de los brotes al consumo de la carne de pollo en un 63% (AESAN, 2012), por consiguiente esta investigación tuvo como fin la determinación de la frecuencia de campilobacterias termotolerantes, realizándose en muestras de carcasas y menudos de pollo expendidos en cinco mercados de la ciudad de Juliaca, donde también se tuvo en cuenta la procedencia de las muestras de acuerdo a las avícolas donde se realiza la producción del pollo, diferenciados en industriales y artesanales.

Sabiendo que las campilobacterias termotolerantes son microorganismos exigentes en cuanto a sus requerimientos para lograr un aislamiento exitoso, en ésta investigación las muestras de carcasas y menudos de pollo se cultivaron en medio específico agar sangre de Skirrow modificado por las cualidades de reprimir a la flora competitiva y facultar el aislamiento de *Campylobacter*, además a sabiendas que estas bacterias con microaerofilas y capnofilas se le condiciono una atmosfera adecuada (anaeróbica) y en una temperatura afín a su termotolerancia (42°C) (Koneman *et al.*, 2006). Al termino del cultivo se verificaron las características culturales de las colonias, las campilobacterias termotolerantes mostraron las mismas en tamaño, color, transparencia, aspecto, dispersión, y el no ser hemolíticas (Farace y Viñas, 2007). Con respecto a la identificación

de las especies hoy en día el mercado ofrece una gran variedad de pruebas de identificación, pero en ésta investigación se ha aplicado las pruebas bioquímicas, según el manual de procedimientos para el aislamiento y caracterización de *Campylobacter* spp. (Farace y Viñas, 2007), como la prueba de la hidrólisis del hipurato que permitió diferenciar a *C. jejuni* de *C. coli* y de otras campilobacterias termotolerantes, entre otras pruebas está la oxidasa de reacción positiva para todas las campilobacterias termotolerantes, la catalasa que es negativa o escasa para *C. upsaliensis*, la prueba de reducción de nitratos, la reacción al ácido nalidixico donde hubo resistencia para *C. lari* y la reacción a la cefalotina.

Los resultados obtenidos en ésta investigación evidencian que las campilobacterias termotolerantes están presentes en las carcasas y menudos de pollo; en carcasas *C. jejuni* prima con respecto a las otras especies, concordante a las expectativas de la investigación, además Mardones y López (2017), la definen como la especie mejor adaptada y la más frecuente en causar infección en el hombre. Por otro lado en menudos la especie *C. coli* resulto a la par que *C. jejuni*, ésta especie es considerada por muchos autores como la segunda en importancia clínica y Hernández (2007), la describe como la campilobacteria más resistente a efectos lesivos.

Objetivamente ésta investigación muestran una perspectiva más amplia de las campilobacterias termotolerantes en el pollo que se expende en mercados de la ciudad de Juliaca. En el marco de la salud el propósito de esta investigación es resaltar la importancia de *Campylobacter* como un grupo de bacterias peligrosas en el Perú y que el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), considere a éstas bacterias con más énfasis en sus requisitos bacteriológicos para garantizar la calidad del pollo para consumo humano. También está investigación logre concientizar al productor industrial, al productor artesanal (campero), al personal en el beneficio y otros involucrados, de que existe un problemas real y latente en la producción de carne de pollo y sus menudos, todo con el fin de prevenir la contaminación por campilobacterias termotolerantes.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar la frecuencia de *Campilobacterias* termotolerantes en las carcasas y menudos de pollo, que se expenden en los mercados de la ciudad Juliaca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Identificar especies termotolerantes de *Campylobacter* en las carcasas de pollos que se expenden en los mercados: Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.
2. Identificar especies termotolerantes de *Campylobacter* en los menudos (hígado y molleja) de pollos que se expenden en los mercados: Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.
3. Estimar la frecuencia de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas y menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales (Ave fresco, El Corral, Avinor, El Pollon y otros) y avícolas industriales (Rico pollo, San Fernando e Imba) que abastecen a los mercados; Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes de la ciudad Juliaca.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANTECEDENTES.

Las especies termofílicas de *Campylobacter* son consideradas las más patógenas para el hombre (Trachoo, 2003), agrupadas como enfermedades de transmisión alimentarias (ETAs) con mayor presencia en la carne de pollo (Elika, 2006), es razón por la que con el fin de determinar su presencia en éste producto se realizan varios estudios, como el de Antillón *et al.* (1991), que investigo pollos enteros, sin congelar, eviscerados y sin cabeza, procedentes de 20 expendios seleccionados al azar en Costa Rica, con un método que consistió en la utilización del enjuague en agua peptonada al 0,1% y cultivo en agar Skirrow, incubándose a 42°C/48 horas en anaerobiosis, donde se aisló *Campylobacter* en un 63% (63/100) y las especies identificadas por pruebas bioquímicas fueron *C. jejuni* (57%), *C. coli* (27%) y *C. laridis* (16%).

La especie *C. jejuni* es causante de cuadros gastroentericos en el ser humano (Hernández, 2007), por lo que se han realizado varios estudios. En la ciudad de Cali para evaluar la eficacia del proceso de sacrificio y empaque de pollo, se utilizó una metodología que consistió en el uso del caldo Campy-Thio como transporte y enriquecimiento y su posterior cultivo en medio Campy-BAP a 42°C en microaerofilia, donde se encontró en canales de pollo a *C. jejuni* en 13,33% (16/120), por las característica de las vísceras se encontró que *C. jejuni* en pollo sin contenerlas fue 8,33% (5/60) y con las vísceras introducidas en la cavidad abdominal fue 18,33% (11/60) (Carmona, 1985). Con el mismo fin se estudió carne de pollo congelado de una planta procesadora, donde se enriqueció en caldo Exeter modificado, seguidamente las cultivó en medio selectivo mCCDA y Skirrow en anaerobiosis y se identificó mediante pruebas bioquímicas, donde la especie *C. jejuni* mostró un 12% (36/300) de muestras positivas (Figuroa, 2006).

La importancia de la carne aviar que consume la población es un posible vehículo de *Campylobacter* sp. en siete comercios locales de Buenos Aires, donde las muestras se procesaron en laboratorio donde se realizó un previo enriquecimiento en caldo Brucella preincubandolo por 24h a 42°C en anaerobiosis y posterior cultivo en agar Skirrow incubado a 42°C/48 horas en anaerobiosis, resultando 13 muestras positivas de 14 con *C. jejuni* (92,8%) (López *et al.*, 2003). Otro estudio con el mismo fin en dos expendios

comerciales (1 y 2) provenientes de una planta procesadora avícola en ciudad de Atenas, donde las carcasas de pollos se cultivaron por el método convencional y resultaron positivas para *C. jejuni* un 3,1% (2/64) en un expendio y en el otro un 1,5% (1/64). (Lamping y Dols, 2001).

Hoy en día el pollo que llega a la mesa de los consumidores tiene varios orígenes, como el industrial con una alta producción de crianza y el de granja que es un negocio más familiar (Morato, 2017). Es así que se realizó un estudio, en una granja de pollos camperos con el fin de determinar la contaminación de *Campylobacter*, se procesaron muestras de pollos enteros recién faenados, con una metodología que consistió en colocar las muestras en caldo de enriquecimiento Brucella preincubando por 24h a 42°C en microaerofilia, seguidamente se realizó el cultivo en agar Skirrow incubándose a 42°C/48h en anaerobiosis, donde resultaron positivas para *Campylobacter* termotolerantes un 6 (60,0%) muestras y las especies identificadas por pruebas bioquímicas fueron *C. jejuni* (83,3%) y *C. coli* (16,6%) (Giacoboni *et al.*, 2002).

También otro estudio, en un rastro artesanal para determinar la presencia de *Campylobacter* sp., en carne de pollos de engorde faenados en la ciudad de Guatemala, utilizaron el método del previo cultivo de enriquecimiento en caldo BHI (Brain Heart Infusion) adicionada con suplemento antibiótico, incubándolos por 24h a 42°C en microaerofilia, seguidamente se cultivó en agar Skirrow, incubado a 42°C/48h en condiciones de anaerobiosis, resultando un 40% (10/25) de muestras para *Campylobacter* sp. (Calderón, 2006). En carcasas de pollos frescos provenientes de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto” de la ciudad de Cuenca, se realizó un estudio de la presencia de *Campylobacter* spp., en la que, las muestras fueron procesadas en laboratorio donde se usó el método de enjuague en agua peptonada al 0,1%, posteriormente se realizó el cultivo en agar Skirrow incubándose a 42°C/48h en condiciones de anaerobiosis, donde 30.67% (23/75) fueron positivas para *Campylobacter* spp. (Moreno, 2015). En los mercados municipales de Mixco, realizó un estudio en distintos puestos de venta de pollo artesanal, cuyo procedimiento fue el enjuague en agua peptonada y cultivo en agar sangre mediante filtración pasiva, posteriormente incubándose a 37°C por 48 horas en microaerofilia, confirmando la presencia positiva de *Campylobacter* sp. en un 1,78% (1/56) (Guerra, 2017).

Las plantas de procesamiento avícola con lugares donde se contaminan los canales de pollo por campilobacterias termotolerantes (Klotz *et al.*, 2013). Por lo que un estudio en Costa Rica, para determinar la prevalencia de *Campylobacter* spp. en pollo de engorde para consumo humano en enjuagues de carcasas resultó con un 61,53% (61/99) de muestras positivas y en carcasas de puntos de venta fue de un 60,42% (58/96) (Zumbado y Romero, 2016). Con el mismo objetivo, también se analizaron pollos de una planta avícola, en diferentes etapas del proceso de producción, donde *Campylobacter* sp. se aisló en 73,3% (44/60) de los pollos analizados inmediatamente luego de la evisceración, sin embargo la bacteria no se detectó en los 116 pollos restantes analizados en las subsiguientes etapas de proceso de destace y empaque (Rojas *et al.*, 1996). También en Costa Rica se realizó un estudio en alimentos de origen animal para consumo humano, específicamente en canales de pollo que se expende en puntos de venta, donde se aisló a *Campylobacter* spp. en un 73,4% (39/53) de las muestras que fueron incubadas en medios enriquecidos y selectivos (Jiménez, 2016).

El informe del comité científico de la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) con relación a las medidas de control para reducir la presencia de *Campylobacter* spp. en carne fresca de aves (pollo) recogió datos del EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) de la presencia de *Campylobacter* spp. en puntos de venta del comercio minorista en países de la Unión Europea: En el año 2009 en República Checa (75,0%), Francia (90,1%), Eslovenia (78,3%) y también en el año 2010 en Austria (3,1%), Alemania (28,5%), Bélgica (12,1%), Dinamarca (46,2%), España (25,4%), Holanda (9,9%), Hungría (43,3%), Lituania (10,0%), Luxemburgo (58,8%) (AESAN, 2012). También, en Bosnia y Herzegovina, donde Alagic *et al.* (2016), con el fin de investigar la contaminación de abdómenes de pollo por *Campylobacter* spp. en los mataderos más modernos de Bosnia y Herzegovina, la metodología usada en el laboratorio fue un previo cultivo en caldo de enriquecimiento Preston por 18 horas a 42°C en microaerofilia, posteriormente se cultivó en placas de agar Karmali y agar Skirrow por 48 horas a 42°C en condiciones de microaerofilia, donde obtuvo un resultado en pechuga de pollo positivo para *Campylobacter* spp. de 19,0% (16/84), donde 17,9% corresponde a la especie *C. jejuni* y un 1,2% a la especie *C. coli*.

Con el avance de la tecnología para el diagnóstico bacteriológico hoy en día el mercado ofrece nuevos métodos para la identificación de especies, con respecto a las especies de

Campylobacter varios estudios para su identificación utilizaron la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En Costa Rica, utilizando esta moderna técnica en canales de pollo dieron positivas un 64,1% (34/53) para *C. jejuni*, un 1,8% (1/53) para *C. coli* y el 7,5% (4/53) para ambas especies (Jiménez, 2016). También en el mismo país se evaluaron puntos de venta para la detección y aislamiento de *Campylobacter* sp. Donde el PCR multiplex especie-específico para *C. jejuni* y *C. coli* identificó para *C. jejuni* un 50% (12/24) y a la vez 4,2% (1/24) para *C. coli* (Zumbado *et al.*, 2014). En el marco del proyecto presentado en el certamen “Premios Senasa a la Investigación”, Valentini *et al.* (2015), investigó la prevalencia de *Campylobacter* spp. en canales de pollos mediante la técnica de PCR multiplex, donde los resultados mostrados para *C. jejuni* fue un 13% (9/72), *C. coli* fue un 9% (7/72), además de un 3% (2/72) para ambas especies.

También en nuestro medio es de preferencia el consumo de la menudencia del pollo que es un producto que también se contamina con *Campylobacter*. Es así que en la ciudad de la plata, se procesaron menudos de pollos en 4 comercios, con un método basado en un previo enriquecimiento en caldo Brucella preincubando por 24h a 42°C en anaerobiosis y se cultivó en agar Skirrow incubado a 42°C/48h en anaerobiosis, de las cuales *Campylobacter* termotolerantes se aisló en un 35,8% (43/120) en dos de los cuatro comercios, donde las especies identificadas por pruebas bioquímicas fueron: *C. jejuni* (35,0%) y *C. coli* (0,8%) (Giacoboni *et al.* (1999). Otros investigadores estudiaron hígados de pollos para determinar la presencia de *Campylobacter* sp., en un rastro artesanal de la ciudad de Guatemala donde utilizando el método de previo enriquecimiento en caldo BHI (Brain Heart Infusion) adicionada con suplemento antibiótico incubándolos por 24h a 42°C en microaerofilia y cultivadas en agar Skirrow incubado a 42°C/48h en condiciones de anaerobiosis, donde resultaron positivas 40% (10/25) de las muestras (Calderón, 2006). Otro estudio en hígados, en Bosnia y Herzegovina, varía con la anterior metodología en el uso del caldo de enriquecimiento Preston, donde obtuvo para *Campylobacter* spp. un 9,5% (8/84), de los cuales 9,5% corresponden a *C. jejuni* y la especie *C. coli* no fue aislado (Alagic *et al.*, 2016).

Utilizando técnicas diferentes para la identificación de las especies de *Campylobacter* en menudos de pollo y vísceras, una investigación realizada en Argentina utilizó la técnica de PCR multiplex (reacción en cadena de la polimerasa múltiple), donde los resultados en hígados de pollo muestran un 12% para *C. jejuni* no encontrándose otras especies y en

ciegos de pollo *C. coli* presentó un 37% y *C. jejuni* un 10% (Valentini *et al.*, 2015). Utilizando una técnica diferente para la identificación de especies en la ciudad de La Habana, se realizó un estudio para la determinación de *Campylobacter* spp. en gallinas destinadas al consumo humano, donde se estudiaron intestinos e hígados (37 y 36), inoculándose en medio de enriquecimiento caldo Bolton por dos días y cultivándose en Agar Karmali a 41,5°C/2días en microaerofilia, las especies se identificaron usando el Kit Api-Campy, resultando para *Campylobacter* un 65,6%, de las especie identificadas *C. coli* fue la predominante con 20,6%, seguido de *C. jejuni* con 3,1% y las otras especies identificadas son *C. upsaliensis*, *C. fetus* y *C. fecali* cada uno con 1,5% de aislamientos (Jordán, 2014).

Las temperaturas utilizadas para la conservación de la carne de pollo como la refrigeración (2-4°C) solo detienen el crecimiento de las campilobacterias termotolerantes pero no las eliminan y en de la congelación (a menos 18°C) estas bacterias se han recuperado (Elika, 2013; Hernández, 2007). Es así que un estudio en México, en la Comarca Lagunera de Durango, procesaron muestras de carne de pollo, de 19 expendios del mercado de abastos José Ramón FDZ para determinar la presencia de *Campylobacter*, en pollo congelado resulto un 89% (34/38), mientras que en el pollo fresco (pollo refrigerado) resulto un 74% (28/38), con un total de muestras positivas a *Campylobacter* de 81% (62/76) (Rodríguez *et al.*, 2016).

En el plano nacional se realizó un estudio para determinar la presencia de *Campylobacter* en la ciudad de Lima, en tres centro de acopio de pollo (Cercado de Lima, San Luis y San Martín de Porras), en ésta investigación se usó el método de enjuague en agua peptonada al 0,1%, seguidamente del cultivo en medio para *Campylobacter* Blood-Free selective agar base (Mccda, oxoid) con suplemento antibiótico, incubándose a 42°C/48h en condiciones de microaerofilia, donde los resultados en los canales de pollo fueron: 16,7% (10/60) positivas a *Campylobacter* spp., y las especies identificadas por microbiología tradicional fueron *C. jejuni* 6 (60%) y *C. coli* 4 (40%) (Lucas *et al.*, 2013). El clima cálido aparentemente favorece a las campilobacterias termotolerantes, como la ciudad de Iquitos (de temperatura promedio anual de 30,7°C y humedad anual de 97,7%, siendo tropical), en carne de pollo para el consumo humano, difiriendo con el estudio de Lucas *et al.* en la metodología, en el usó de un medio de enriquecimiento (TEC), donde las muestras se incubaron a 36°C/6h en microaerofilia y la identificación de las especies de

Campylobacter se realizó por microbiología tradicional, donde resultó para *Campylobacter* spp. un 21,1% (27/128) y las especies identificadas fueron *C. jejuni* (11,7%), *C. coli* (9,4%) (Lozano, 2016).

Investigaciones en mercados muestran la presencia de campilobacterias termotolerantes. En los mercados Belén y Modelo en la ciudad de Iquitos, se colectaron 128 muestras de carne de pollo para el consumo humano, donde *C. jejuni* en el mercado Belén fue 8.3% y en el mercado Modelo 16.1%, la especie *C. coli* se distribuye con un 5.6% para el mercado Belén y 14.9% para el mercado Modelo (Lozano, 2016). En los mercados del Gran Área Metropolitana de Costa Rica, se analizaron 24 muestras de carne de pollo tomadas en punto de venta, la distribución por mercado de provincia fue 8 de Heredia, 8 de Alajuela y 8 de San José, donde 4/24 (16,66%) corresponde al mercado de Heredia, 2/24 (8,33%) al de Alajuela y 6/24 (25,0%) a de San José (Zumbado *et al.*, 2014).

2.2. MARCO TEÓRICO.

2.2.1. *Campylobacter*.

2.2.1.1. Características generales.

El género *Campylobacter* agrupa 24 especies bacterianas, de las cuales las especies termotolerantes causales de diarrea en el ser humano son: *C. jejuni* (89-96%) y en menor proporción por *C. coli* (4-11%) (Acha y Szyfres, 2001), *C. lari* puede causar enteritis en humanos pero su prevalencia es menor (Lapierre, 2013). *Campylobacter* es un bacilo Gram-negativo que no forman esporas (no esporulado) (Koneman *et al.*, 2006; Mandell *et al.*, 2012), de morfología delgada, son curvados con forma de “S” o espiralados, también aparecen en forma de ala de gaviota (Brooks *et al.*, 2011; Trachoo, 2003), su tamaño oscila entre 0,2-0,9 um de ancho y 0,5-5,0 um de largo (Ausina y Moreno, 2006; Rojas *et al.*, 2006; OIE, 2008), son móviles gracias a sus flagelos polares, ubicados en uno o los dos extremos, excepto *C. gracilis* que no es móvil (Mardones y López, 2017; Hernández, 2007). Estos microorganismos tienen un metabolismo típicamente respiratorio, no fermentan los azúcares y son no oxidativos, y obtienen energía del uso de aminoácidos e intermediarios del ciclo del ácido Tricarboxílico (ATC) (Koneman *et al.*, 2006; Spicer, 2009).

2.2.1.2. Taxonomía del género *Campylobacter*.

Situación taxonómica del género *Campylobacter* según el Manual de Bergey's (Adaptado de Garrity, 2004):

Dominio:	Bacteria
Phylum:	Proteobacteria
Clase:	Epsilonproteobacteria
Orden:	Campylobacterales
Familia:	Campylobacteraceae
Género:	<i>Campylobacter</i>
Especies:	<i>C. jejuni</i>
	<i>C. coli</i>
	<i>C. lari</i>

2.2.2. *Campylobacter* en los alimentos.

Las campilobacterias contaminan fácilmente los alimentos, incluyendo carne y derivados cárnicos, leche y derivados lácteos, pescado y productos de pesca, así como agua, frutas y hortalizas, debido a que los microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Siendo su reservorio más común el tracto intestinal de los mamíferos y aves, domésticos y salvajes (Elika, 2006). En el informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en 2012 reporta los principales alimentos implicados en los brotes atribuidos a *Campylobacter* spp.: 63% se atribuyen al consumo de carne de pollo, un 18,5% a la ingestión de leche no pasteurizada, un 7,4% a comidas preparadas listas para consumir, otro 7,4% a carnes procedentes de otras especies animales diferentes del pollo y un 3,7% al queso (AESAN, 2012).

2.2.3. *Campylobacter* en la carne de pollo.

2.2.3.1. Producción y consumo en Perú y el mundo de la carne de pollo.

Según el departamento de agricultura de los EE.UU. (USDA, por su sigla en inglés), estima la producción mundial de carne de pollo en el año 2010 fue de 73,9 millones de toneladas, en cuanto al consumo mundial fue más de 73,3 millones de toneladas (Friedmann y Weil, 2010). En el Perú, tanto la producción como el consumo van en crecimiento, en el año 2009 la producción de carne de pollo fue de 884 000 toneladas y el consumo de pollo per cápita fue de 30 kg por habitante al año (MINAG, 2010), para el año 2015 la producción del sector avícola registró 1.2 millones de toneladas entre enero y agosto de este año, lo que significó un aumento, según cifras del Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) (Scotiabank, 2016) y el consumo per cápita de pollo fue de 43.05 kilos, alcanzando en Lima los 76.4 kg por habitante al año (Vera, 2016).

2.2.3.2. Clasificación en la producción del pollo de acuerdo a la procedencia.

a. Pollos de avícolas industriales.

En pollo industrial se caracteriza por una crianza intensiva, donde se mantienen una gran cantidad aves en un lugar limitado, creciendo hacinados en naves y alimentados con piensos Morato (2017), el hacinamiento genera acumulación de una gran cantidad de

heces fecales y éstas en los animales tiende a desarrollar frecuentemente enfermedades infecciosas, lo que hace que requieran un tratamiento con antibióticos, además que los productores industriales también los administran de forma preventiva para estimular el crecimiento de las aves y su sobrevivencia (Morato, 2017; Wikimedia, 2018). Los pollos industriales están listos para ser sacrificados a los 45 días de vida (Morato, 2017), actividad que se realiza en grandes plantas de sacrificio (Friedmann y Weil, 2010), donde la alta producción han hecho que se utilicen equipos automatizados en las etapas de escaldadura, desplume y eviscerado (Moore *et al.*, 2005).

b. Pollos de avícolas artesanales.

Los pollos de crianza artesanal, también denominados como pollos de corral, pollos camperos, pollos de campo, pollos de crianza tradicional, relacionados en parte a los pollos ecológicos. Son criados al aire libre, en régimen de semilibertad, reduciendo el nivel de estrés del animal y mejorando la calidad de vida (León, 2011). Los pollos de crianza artesanal se alimentan principalmente de cereales, como el maíz, la cebada, nutrientes vegetales como la alfa-alfa, con respecto a la dosificación de antibióticos estas aves no la necesitan y solo reciben las vacunas que marca la ley (Morato, 2017; COECO, 2013). Razón por la cual su crecimiento es lento en comparación industrial y se sacrifican con una media de 90 días, haciendo que su carne sea más madura y de mejor calidad (Morato, 2017). Los productores de pollo artesanal suelen disponer de matadero propio, homologado y auditado, otros poseen sala de despiece y una planta de elaboración de preparados (Sanchar, 2014; León, 2011). En los puestos de venta el pollo de origen artesanal posee un color más amarillento, también su tamaño es más grande en comparación al industrial (Morato, 2017).

2.2.3.3. Productos del pollo para consumo humano.

a. Carcasas o canales de pollo.

La carcasa del pollo es el cuerpo de esta ave después de ser insensibilizada, desangrada, desplumada y eviscerada. La carcasa de pollo puede o no tener los riñones y los apéndices del ave (patas, cuello o cabeza). A partir de un corte transversal de la carcasa entera se pueden obtener dos porciones que son; la media carcasa superior que abarca la pechuga entera con alas, la media carcasa inferior que comprende la pierna entera y el espinazo.

La carcasa también posee la piel del ave que es el tejido recubre el cuerpo, además de su propia grasa que corresponde al tejido adiposo de la carcasa (NTP, 2009).

b. Menudos o menudencia de pollos.

Los menudos comprenden el conjunto de vísceras y apéndices del pollo, entre las vísceras que se consideran están el hígado, corazón y molleja, en el caso de los apéndices se considera la cabeza, cuello y patas. Con respecto al hígado éste debe estar sin la vesícula biliar, el corazón puede estar con o sin pericardio en referencia a la molleja puede estar con o sin grasa, pero sin membrana ni contenido. Los apéndices están comprendidas por los huesos y los tejidos blandos que las rodean. Los menudos pueden ser colocadas dentro del ave faenada (NTP, 2009).

2.2.3.4. Contaminación en la cadena de producción y expendio del pollo por *Campylobacter*.

a. Contaminación en la crianza del pollo por *Campylobacter*.

Las aves de granja son colonizadas sobre todo por *C. jejuni* (65-95%). Los índices de colonización de pollos están relacionados con la edad, la mayor parte de las poblaciones son negativas hasta los 10 a 14 días de edad. Una vez que se produce la colonización por *Campylobacter* en poblaciones avícolas, la transmisión horizontal por coprofagia es extremadamente rápida y puede llegar a colonizar en 72 horas hasta el 100% de las aves (OIE, 2008; García *et al.*, 2013), la ingestión de 35 ufc puede ser suficiente para la colonización exitosa de los polluelos (Hermans *et al.*, 2011). Después de la ingestión la bacteria alcanza el ciego y se multiplica. En el intestino de pollo es probable que encuentre factores de estrés que comprometan el crecimiento de *C. jejuni*, pero la bacteria alberga sistemas regulatorios que le confieren protección a un entorno hostil (OIE, 2008). La termotolerancia les permite sobrevivir soportando la temperatura de las aves (Mardones y López, 2017). Una vez colonizados los polluelos permanecen como portadores asintomáticos hasta que alcanzan la edad de beneficio, la mayoría de estas aves albergan grandes cantidades de organismo (mayor a 10^6 ufc por g de heces) (García *et al.*, 2013; Moore *et al.*, 2005).

b. Contaminación en el beneficio del pollo por *Campylobacter*.

El beneficio convierte los pollos vivos en canales a lo largo de las siguientes etapas: la recepción de los pollos, colgado aturdimiento, sangrado, escaldado, desplumado, escaldado, corte de patas, corte de cloaca, evisceración, corte de pescuezo, lavado, enfriamiento y empaque. En todo este proceso las fuentes de contaminación por *Campylobacter* pueden provenir del entorno, o del intestino del pollo, siendo los puntos más críticos el desplumado donde se produce contaminación cruzada, la evisceración donde la contaminación es a partir de los intestinos y el enfriamiento (inmersión con cloro libre insuficiente y alta acumulación orgánica), donde ocurre contaminación cruzada (Klotz *et al.*, 2013).

c. Contaminación en el expendio del pollo por *Campylobacter*.

Los canales de pollos que se expenden en los mercados pueden ya estar contaminados por las distintas fases de la cadena de procesado del pollo. En los puestos de mercado, el expendio comprende actividades de alta manipulación sobre los canales de pollo como el desprese, el retiro de piel y el fileteado generando contaminación cruzada (Klotz *et al.*, 2013). Con respecto a la contaminación cruzada, las conductas de peligro en los puestos de venta comprende la manipulación de matrices de distinto origen sin lavado de manos previo o intercambio de guantes, presencia de moscas, uso de tabla de picar sin lavar (Zumbado y Romero, 2016). Además, la presencia de *Campylobacter* está sujeta a factores de ámbito socioeconómico y culturales que afectan la seguridad del comercio de la carne de pollo (Lama, 2008).

2.2.3.5. Supervivencia y viabilidad de *Campylobacter* en carne de pollo.

a. *Campylobacter* en temperaturas altas.

A pesar de que las campilobacterias más patógenas son termotolerantes (crecen bien a temperaturas de 40-43°C), se pueden considerar que son muy sensibles al calor (Elika, 2013). Su valor D o tiempo de reducción decimal a 63,5°C es de apenas unos pocos segundos. En alimentos como la leche, el tiempo de reducción decimal a 55°C es de un minuto. En carne, a 60°C se obtiene ese mismo valor D de un minuto. A 60°C durante 10 min en carne cocinada se logra una reducción total, mientras que a 50-53°C se ha

recuperado células viables de *Campylobacter*. La resistencia al calor depende del pH del medio en el que se hallan las células sometidas a calentamiento, es máxima en valores próximos a 7 y disminuye a medida que el pH se aleja de la neutralidad (Hernández, 2007).

b. *Campylobacter* en refrigeración y congelación.

Campylobacter no posee proteínas para el shock por frío y son incapaces de crecer por debajo de 30°C (Mardones y López, 2017). Por lo tanto, la refrigeración (0-10°C) detiene el crecimiento de la bacteria (Elika, 2013). Aun así, la supervivencia a temperaturas de refrigeración para *C. jejuni* se ha calculado en varias semanas a 4°C en una superficie húmeda como la carne de pollo, pero tiende a morir rápidamente a temperatura ambiente. *C. coli* parece ser la especie del género más resistente a efectos lesivos causados por bajas temperaturas y condiciones ambientales adversas. Las condiciones de congelación influyen negativamente en la tasa de inactivación de *C. jejuni* en alimentos cárnicos almacenados a -15°C ó -20°C. Sin embargo, la supervivencia a -20°C es posible y *Campylobacter* puede ser recuperado del pollo congelado después de tres meses de almacenamiento. Existe una clara variabilidad genotípica y fenotípica dentro de este género, lo cual explica que la capacidad de adaptación fisiológica de este patógeno difiera entre cepas. Al mismo tiempo, aun no se conocen los mecanismos de éstas diferencias de tolerancia al frío (Hernández, 2007).

c. *Campylobacter* en superficies inertes, de alimentos y presencia de oxígeno.

Campylobacter es sensible a condiciones ambientales evitando su multiplicación, no obstante puede sobrevivir en el medio externo evitando su desecación (AESAN, 2012). La presencia de oxígeno aumenta el ritmo de muerte de *Campylobacter*, siendo muy susceptible en alimentos como la leche, pero esta fase gaseosa tiene escaso efecto sobre la supervivencia de los organismos en las superficies de las carnes. Es así que, *C. jejuni* también puede crecer en la superficie de alimentos (Hernández, 2007). *Campylobacter* spp. asegura su supervivencia resistiendo al estrés en superficies inertes (vidrio, acero inoxidable y plástico), agua, tejidos del hospedador y alimentos, por la capacidad de formar biopelículas, como formas de persistencia y diseminación por más de 24 días a temperatura ambiental (Mardones y López, 2017).

2.2.3.6. Frecuencia de *Campylobacter* en carne de pollo.

En un contexto general la frecuencia de *Campylobacter* varía ampliamente en carcasas de pollo, por ejemplo en Europa, oscilan desde un 4,9% en Estonia a un 100% en Luxemburgo. La frecuencia de hallazgos de *Campylobacter* en carcasas de pollo en expendio, está ligada a etapas anteriores que van desde la crianza hasta el término del proceso de producción. En la crianza los factores pueden ser los diferentes sistemas de manejo, distinta densidad de animales, distancia entre unas granjas y otras, estado de las granjas, reglamentaciones zoonosológicas diferentes (García *et al.*, 2013). Así encontramos, que para el faenado de los pollos éstos poseen altos reportes de *Campylobacter* agravando más las múltiples posibilidades de contaminación cruzada que se produzcan durante la masacre y el procesamiento. También, el hecho de procesar un gran número de canales de diferentes fuentes conduce a la difusión de los agentes patógenos entéricos, incluyendo a *Campylobacter* en las primeras etapas de sacrificio (Moore *et al.*, 2005), en las etapas de escaldadura, desplume, eviscerado y tanques de enfriamiento (AESAN, 2012). Al término de la producción, la piel de las carcasas pueden contener un gran número de campilobacterias *in situ* sobre el producto bruto y aumentando la probabilidad de exposición al consumidor (Moore *et al.*, 2005). La frecuencia de *Campylobacter* en granjas de pollos depende de la estación del año y la situación geográfica (García *et al.*, 2013), la colonización de los pollos en la crianza es mayor en verano por el incremento de moscas que pueden actuar como vectores, también las moscas cumplirían la misma función en el expendio, por ejemplo en países Europeos donde el invierno dura la mayoría del año como Finlandia (1,8%), Noruega (5,1%) (AESAN, 2012), presentan frecuencias bajas para *Campylobacter*. También otros factores que influirán en gran medida en la frecuencia de *Campylobacter* serían las metodologías de muestreo y la utilización de distintos métodos de aislamiento (García *et al.*, 2013). Respecto a las especies, en pollos *C. jejuni* es la especie aislada con mayor frecuencia, aunque investigaciones en algunos países han obtenido una mayor proporción de aislamientos de *C. coli*, pero los mayores aislamientos de *C. coli* se dan en cerdos (Elika, 2006) y *C. lari* su principal reservorio son las aves marinas en especial las gaviotas (Mardones y López, 2017).

2.2.4. Aislamiento e identificación de *Campylobacter* en carne de pollo.

2.2.4.1. Toma de muestra.

En el caso del pollo de expendio listo para cocinar, las muestras deberán ser recolectadas al azar, para su posterior traslado al laboratorio, en recipientes que aseguren la cadena de frío hasta el momento de la prueba. Los análisis deben iniciarse dentro de las 24 horas siguientes a su recolección (NTP, 2001). La muestra representativa a obtener en un pollo para realizar el cultivo es 25 g (Farace y Viñas, 2007).

2.2.4.2. Cultivo.

a. Método del enjuague.

La técnica o método del enjuague para el aislamiento de *Campylobacter* sp. en alimentos (carne de pollo), se realiza en bolsas plásticas donde se les remoja y masajea por 1 a 2 minutos en 100 a 300 ml de agua peptonada al 0,1% (Antillón *et al.*, 1991; Lucas *et al.*, 2013). De esta solución se extrae una alícuota de 0,1 ml y se siembra en un medio específico para *Campylobacter* (López, 2004).

b. Medios de cultivo para *Campylobacter*.

Los medios de cultivo a usar para el aislamiento de *Campylobacter* son medios selectivos como el Campy-Thio, Campy-BAP, medio selectivo Butzler, medio selectivo Preston, agar sangre Skirrow entre otros. Todos los medios selectivos tienen una muestra antibiótica que evita el desarrollo de otras bacterias y condiciona el desarrollo de *Campylobacter*, los aditivos del agar sangre Skirrow son sangre de caballo lisada (7%), vancomicina (10 mg/L), polimixina B (2.500 UI/L) y trimetoprim (5 mg/L). En las placas de agar Skirrow se siembra por método de dispersión, usando la técnica de estrías (Koneman *et al.*, 2006).

c. Microaerofilia.

El microorganismo crece mejor en concentraciones bajas de oxígeno (microaerofilo) y elevadas de dióxido de carbono (capnofilas) (Koneman *et al.*, 2006), pero algunas cepas pueden crecer en aerobiosis y anaerobiosis, siendo su atmósfera adecuada de crecimiento;

5% de Oxígeno (O₂), 10% de dióxido de Carbono (CO₂), 85% de Nitrógeno (N₂) (OIE, 2008; Rojas *et al.*, 2006; Murray *et al.*, 2009). Para lograr una atmosfera microaerofílica se puede usar sobres generadores de gases especiales para *Campylobacter*, son productos del comercio (BBL, Oxoid, Bio-Merieux), o se puede usar el método de la jarra con vela, la combustión de la vela aporta una atmosfera aproximada de 17-19% de oxígeno y de 2-4% de dióxido de carbono, se postula que el rendimiento de este método es mayor a 42-43°C que a 37°C (Farace y Viñas, 2007).

d. Temperatura y pH de crecimiento.

La mayoría de campilobacterias crecen a una temperatura de 37°C (Hernández, 2007), pero las especies termófilas como *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* crecen óptimamente a 42-43°C (Koneman *et al.*, 2006; OIE, 2008; Murray *et al.*, 2009). Su desarrollo en temperaturas inferiores a 30°C es mínimo e incluso nulo (AESAN, 2012). Tampoco se desarrollan en temperaturas por encima de 45°C (Klotz *et al.*, 2013). El pH óptimo para el crecimiento de *Campylobacter* es de 6,5 a 7,5 (Elika, 2013).

e. Tiempo de incubación.

El tiempo de incubación es de 24 - 48 horas (Farace y Viñas, 2007).

f. características culturales de las colonias de *Campylobacter*.

Las características culturales o morfológicas de las colonias son: tamaño (pequeñas), color (blanco grisáceo, medianamente transparentes como gotas de agua), aspecto (mucoide, planas) y extendidas sobre la superficie del medio (efecto de swarming), no hemolíticas (Farace y Viñas, 2007). La OIE, describe que también presentan el aspecto liso y brillante en el agar Skirrow y otros agares con sangre. Las características de las colonias de *Campylobacter* son similares (OIE, 2008).

2.2.4.3. Pruebas de identificación.

a. Coloración de Gram modificada.

Las campilobacterias son bacterias Gram negativas, pero este microorganismo no se tiñe bien con la safranina (Farace y Viñas, 2007). Así que la técnica se realiza alargando el

tiempo del reactivo safranina por 3 minutos, pues de lo contrario el contraste será muy pobre y difícil de visualizar a la bacteria (Torres, 1996). Esta técnica puede modificarse y prolongar el reactivo por 10 minutos (Koneman *et al.*, 2006).

b. Prueba de catalasa.

Esta prueba permite comprobar la presencia de la enzima catalasa que descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. Para esta prueba se toma una colonia, colocándose sobre un portaobjetos limpio y se agrega una gota del reactivo peróxido de hidrógeno al 3%. El desprendimiento abundante de burbujas (O_2 y H_2O) revela una prueba positiva (McFaddin, 2003). *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* son catalasa positivo, *C. upsaliensis* es catalasa negativo o de reacción escasa (Farace y Viñas, 2007; Koneman *et al.*, 2006).

c. Prueba de oxidasa.

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de la enzima oxidasa. El método a usar es el de reactivo en tira (reactivo: oxalato de dimetil-*p*-fenilendiamina al 1%), que consiste en tomar la muestra a analizar, extenderla mediante frotación sobre la superficie de una tira seca o tira mojada (con agua destilada) que contenga el reactivo oxidasa. Después de 10 segundos aparecerá un color púrpura oscuro o rojo indicando un resultado positivo (McFaddin, 2003). *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* son oxidasa positivo (Farace y Viñas, 2007; Koneman *et al.*, 2006).

d. Prueba de reducción de nitratos.

Para observar si la bacteria es capaz de reducir los nitratos en nitritos o en nitrógeno libre, esta reacción se realiza en condiciones anaeróbicas, se utiliza caldo nitrado al 2,5% y nitrato de potasio al 0,1%. A las 24 horas de incubación a 37°C los caldos inoculados se revelan con 3 gotas del reactivo A (ácido sulfanílico 0.8 g, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100 ml) y 3 gotas del reactivo B (dimetil α naftilamina 0,5 g, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100 ml). La aparición de color rojo vino o rosado intenso, indicará una reacción positiva, si no hay cambio de color es negativa (Farace y Viñas, 2007). *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* reducen el nitrato a nitrito (Koneman *et al.*, 2006).

e. Prueba de hidrólisis del hipurato.

Esta prueba determina la capacidad enzimática del microorganismo para hidrolizar el hipurato de sodio (ácido hipúrico) a ácido benzoico y glicina por acción de la enzima hipurato hidrolasa (hipuricasa). La actividad enzimática se determina por detección de cualquier producto final, ácido benzoico o glicina. El método con el reactivo ninhidrina es para la detección de glicina, donde se inocula la muestra en tubos preparados con 0,4 ml de hipurato de sodio (al 1% en agua destilada), incubándose por 2 horas a 37°C. Luego, se agrega 0,2 ml (5 gotas) de ninhidrina (3,5 g en 100 ml de mezcla 1:1 acetona y butanol) lentamente por las paredes del tubo, no se debe agitar. Volver a incubar nuevamente por 10 minutos a 37°C. La observación se realiza antes del término de 30 minutos porque se pueden producir falsos positivos, el color purpura-azul oscuro (violeta cristal) indica una reacción positiva, ningún cambio de color indica reacción negativa (MacFaddin, 2003). *C. jejuni* tiene la capacidad de hidrolizar el hipurato, mientras que *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* no lo hacen (Farace y Viñas, 2007; Koneman *et al.*, 2006).

f. Susceptibilidad al ácido nalidíxico y a la cefalotina para identificación.

Esta prueba nos permitirá identificar las especies de *Campylobacter* mediante la sensibilidad diferencial al ácido nalidíxico y a la cefalotina. El método se realiza como si se fuera a hacer un antibiograma. Se inocula una muestra en un tubo que contenga 2 ml de caldo Mueller Hinton. Incubando a 37°C en microaerofilia por 2 horas. De este caldo con un hisopo estéril se toma una muestra y se inocula en una placa de medio selectivo (Mueller Hinton) por método de dispersión, se coloca los discos de ácido nalidíxico y de cefalotina cada uno de 30 mg. Se incuba a 37°C en condiciones de microaerofilia por 24 horas. Finalmente se observa el halo de inhibición que indica la sensibilidad o resistencia a los antibióticos. *C. jejuni* y *C. coli* son sensibles al ácido nalidíxico y resistentes a la cefalotina, *C. lari* es resistente a ambos antibióticos y *C. upsaliensis* es sensible a ambos antibióticos (Farace y Viñas, 2007).

2.2.5. Prevención de la contaminación de *Campylobacter* en carne de pollo.

Campylobacter es frecuente en el ambiente, por lo que la eliminación es prácticamente imposible (Ausina y Moreno, 2006). Para prevenir esta enfermedad de origen alimentario son necesarias las mismas medidas que se dan a otras enfermedades entéricas (Pascual,

2005). El control de las granjas puede reducir la contaminación de los pollos y otros animales. En las explotaciones, durante el sacrificio y la transformación de los alimentos, es importante aplicar las buenas prácticas de higiene, cumplir con los criterios microbiológicos de las materias primas, y los sistemas de autocontrol basados en el Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC) (Elika, 2013).

2.2.6. *Campylobacter* en la salud humana.

Actualmente se considera a *C. jejuni* como uno de los principales agentes bacterianos que causan gastroenteritis en el hombre, junto a *C. coli* implicado con menor frecuencia (AESAN, 2012).

2.2.6.1. Gastroenteritis por *Campylobacter* en el hombre.

a. Patogenia de la gastroenteritis por *Campylobacter* en el hombre.

El ser humano adquiere la infección por *C. jejuni*, *C. coli* u otras campilobacterias tras consumir alimentos contaminados, también puede darse la transmisión fecal-oral de una persona a otra (Murray *et al.*, 2009). En niños, el contacto directo con animales infectados es una causa significativa de campilobacteriosis (Trachoo, 2003; Vliet y Ketley, 2001). La dosis infectiva de *Campylobacter* es mayor a 10^4 microorganismos, pero la enfermedad puede aparecer con la ingesta de 500 microorganismos (Mandell *et al.*, 2012; Brooks *et al.*, 2011), las situaciones que disminuyan o neutralicen la secreción de ácidos gástricos favorecen a la enfermedad (Murray *et al.*, 2009; Amabile, 2008). Los microorganismos colonizan el intestino delgado (Mandell *et al.*, 2012), donde proliferan, invaden el epitelio e interfieren en la absorción intestinal (Brooks *et al.*, 2011). La enfermedad gastrointestinal se caracteriza por la aparición de una lesión histológica en la superficie mucosa del yeyuno, íleon y colon donde la superficie mucosa aparece ulcerada, edematosa y hemorrágica, con abscesos en las criptas de las glándulas epiteliales e infiltración de la lámina propia por neutrófilos, células mononucleares y eosinófilos (Hernández, 2007; Murray *et al.*, 2009).

b. Mecanismos de patogenicidad de *Campylobacter*.

Los factores relacionados con la virulencia de *Campylobacter* se muestran en la tabla 1. No obstante, las cepas aisladas de *C. jejuni* en evacuados de cuadros diarreicos agudos son; extraordinariamente diversas, fenotípica y genéticamente, lo que condiciona las características de sus factores potenciales de virulencia, dichas diferencias radiquen en la plasticidad de su genoma (Hernández, 2007).

Tabla 1. Principales factores de virulencia de *Campylobacter* sp., y el papel que desempeñan en la patogenia de la gastroenteritis y secuelas postinfecciosas.

Factor de virulencia	Papel que desempeña en la patogenia
Flagelos	Motilidad, adherencia, colonización, secreción, invasión. Su sub unidad, la flagelina compuesta por dos unidades (FlaA, FlaB), ha quedado definida su importancia en la colonización (Hernández, 2007).
Quimiotaxis	Esencial para la colonización del intestino. En modelos animales <i>C. jejuni</i> es atraído fuertemente por la mucina (Klotz <i>et al.</i> , 2013).
Adhesinas	<i>C. jejuni</i> se conserva un antígeno superficial PEB1 (proteína periplásmica de unión) que parece ser la principal adhesina; es una diana de la respuesta inmunitaria. La CadF expresada por <i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> , tiene la función de mediar la adhesión celular al unirse a la fibronectina de la matriz celular, e invadirla. La JIpA, una lipoproteína de superficie expuesta (Klotz <i>et al.</i> , 2013).
Toxina de distención citoletal (CDT)	Presente en <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. fetus</i> y <i>C. upsaliensis</i> (Klotz <i>et al.</i> , 2013). Induce la distención celular, esta toxina está compuesta por tres sub unidades codificadas por los genes <i>cdtA</i> , <i>cdtB</i> , <i>cdtC</i> , que provoca en las células eucarióticas la detención en fase G2/M del ciclo celular, evitando que estas entren en mitosis, i en consecuencia conduce a la muerte celular (Lapierre, 2013).
Sideróforos para la captación de hierro	El hierro facilita la colonización del intestino y es importante para el metabolismo bacteriano. La especie <i>C. jejuni</i> posee la enteroquelina codificado por los genes <i>cfrA</i> y <i>cj0718</i> , el sistema de captación de hierro ferroso (proteína Feo B) (Klotz <i>et al.</i> , 2013).
Enzima superóxido dismutasa (SOD)	Protege a <i>Campylobacter</i> de la muerte intracelular que puede provocar los sistemas oxidativos (Hernández, 2007).
HSPs (Heat Shock Proteins)	Regula la respuesta al estrés (choque) térmico, actúan como acompañantes termorreguladores (chaperonas) (Vliet y Ketley, 2001).
Lipopolisacarido (LPS)	El Lípido A de los lipopolisacaridos (LPS) tienen actividad endotoxica típica como la de otras enterobacterias (Lapierre, 2013). La estructura del Antígeno "O" contiene ácido siálico que manifiesta homología con los gangliosidos neuronales, lo que puede contribuir al desarrollo de enfermedades neurológicas postinfecciosas como, el síndrome de Guillain-Barre (GBS) y el síndrome de Miller-Fisher (MFS) (Lapierre, 2013).

Adaptado de Hernández, 2007; Lapierre, 2013; Vliet y Ketley, 2001; Klotz *et al.*, 2013.

c. Cuadro clínico de la gastroenteritis por *Campylobacter* en el hombre.

La gastroenteritis por *Campylobacter* o campilobacteriosis es una enfermedad aguda, que por lo general su periodo de incubación dura de 2 a 5 días (Acha y Szyfres, 2001; Cervantes y Cravioto, 2007). Los principales síntomas son diarrea, fiebre, dolor abdominal, vómitos (en un tercio de los pacientes), la diarrea con frecuencia contiene mucus y sangre visible u oculta (50 a 90% de los enfermos), muchas veces la fiebre está acompañada de malestar, cefalalgias, mialgias y artralgias (Acha y Szyfres, 2001; Murray *et al.*, 2009; Koneman *et al.*, 2006; Cervantes y Cravioto, 2007; Vliet y Ketley, 2001). Pero, por lo general el curso de la enfermedad suele ser benigno y cura de modo espontáneo de una semana a 10 días (Amabile, 2008). La septicemia se presenta en forma simultánea o posterior a la enfermedad diarreica, esto ocurre en 1,5 de cada 1000 infecciones intestinales, siendo más frecuente en los ancianos (Ausina y Moreno, 2006).

d. Tratamiento y prevención de la enfermedad en el hombre.

La campilobacteriosis es una enfermedad autolimitante y generalmente no requiere tratamiento medicamentoso, pero si la reposición hidroelectrolítica (Altekruse *et al.*, 1999; Murray *et al.*, 2009; Ausina y Moreno, 2006). La terapia con antibióticos puede ser prudente en pacientes que tengan fiebre alta, diarrea con sangre, o más de ocho deposiciones en 24 horas, pacientes inmunodeprimidos, bacteriemia y en aquellos cuyos síntomas empeoran o persistan (Altekruse *et al.*, 1999; Ausina y Moreno, 2006). La eritromicina (macrolido) es el antimicrobiano de elección (Ausina y Moreno, 2006) y en casos de niños pequeños la amoxicilina/ácido clavulónico (Murray *et al.*, 2009). No obstante, las medidas de prevención personales incluyen el lavado de manos y la manipulación cuidadosa de productos crudos de animales (Ausina y Moreno, 2006) y se debe desinfectar los utensilios, tablas, superficies en la cocina (Elika, 2013). La exposición a *Campylobacter* entérico se previene con la preparación correcta de los alimentos (Murray *et al.*, 2009), en los alimentos adecuadamente cocidos no se encuentran *Campylobacter* vivos (Ausina y Moreno, 2006), también evitar la contaminación cruzada entre productos crudos y los ya preparados que estén listos para su consumo (Pascual, 2005).

2.2.6.2. Secuelas postinfecciosas por *Campylobacter* en el hombre.

Las secuelas postinfecciosas de la campilobacteriosis son, el síndrome de Guillain-Barre (GBS) que es una enfermedad desmielinizante aguda que afecta a las neuronas periféricas y se caracteriza por una parálisis ascendente, asociado a los lipopolisacáridos (LPS), específicamente el antígeno “O” contiene ácido siálico que manifiesta homología con los gangliosidos neuronales, lo que contribuye al desarrollo de enfermedades neurológicas postinfecciosas (Lapierre, 2013). Donde también se incluye el síndrome de Miller-Fisher (MFS) que se caracteriza por presentar ataxia y oftalmoplejia (Moore *et al.*, 2005), éste síndrome se ha asociado a unos serotipos HS específicos principalmente O:19 y O:41 (Murray *et al.*, 2009; Hernández, 2007). Otra complicación tardía relacionada con el sistema inmunitario es la artritis reactiva, que se caracteriza por una inflamación dolorosa de las articulaciones (Murray *et al.*, 2009).

2.2.6.3. Incidencia de la enfermedad en el hombre.

La enfermedad se presenta de forma esporádica, aunque también hay brotes epidémicos, por lo general en los países de clima templado la enfermedad se presenta sobre todo en los meses cálidos (Acha y Szyfres, 2001). En los últimos años las infecciones por *Campylobacter* son más frecuentes que las inducidas por *Salmonella*, *Shigella* o *Escherichia coli* O157:H7 (AESAN, 2012). En EE UU ocurren más de 2 millones de infecciones al año por este microorganismo (tasas de incidencia anual: 54-58/100.000 hab.) (Hernández, 2007), en la Unión Europea en el 2010 la tasa de incidencia anual fue de 48,4/100.000 hab. (Orihuel *et al.*, 2015). En los países en vías de desarrollo es difícil de establecer la incidencia para *Campylobacter*, debido al estado de portador crónico, así, *C. jejuni* se aísla con frecuencia entre 5-17% de personas sin diarrea y de 8-31% de personas con éste síndrome (Acha y Szyfres, 2001). En los países Sudamericanos las campilobacterias son causa importante de cuadros diarreicos predominantemente en niños menores de 2 años, además muestran la importancia de *C. coli* que es aislado con una alta frecuencia, de los casos de diarrea (Fernández, 2011). Según el informe de la EFSA en 2010, estima que se producen anualmente entre 400 y 500 millones de casos a nivel mundial (AESAN, 2012).

2.3. MARCO CONCEPTUAL.

Campilobacteriosis. Enfermedad diarreica aguda ocasionada por bacterias del genero *Campylobacter*.

Carcasa o canales. Es el cuerpo del animal una vez haya sido sacrificado y se han retirado las plumas, cabeza, patas y vísceras.

Contaminación cruzada. Fenómeno de transferencia de bacterias entre objetos o superficies y el producto objeto de estudio.

Diarrea. Frecuencia y carácter líquido anormal de las deposiciones fecales.

Faenamiento. Comprende las diferentes operaciones realizadas para la obtención de carcasas, menudos y sub productos para fines de consumo directo o transformación, según normatividad vigente.

Frecuencia. Número de veces que ocurre un proceso periódico o recidivante por unidad de tiempo, por ejemplo el número de vibraciones de una partícula por segundo o el número de repeticiones de una onda completa (ciclos) por segundo. Número de veces que ocurre un acontecimiento particular o número de miembros de una población o muestra estadística que pertenecen a una clase particular.

Gastroenteritis. Inflamación aguda del revestimiento del estómago e intestino, que se caracteriza por anorexia, náuseas, diarrea, dolor abdominal y debilidad, de causas diversas.

Inocuidad. La garantía de que los alimentos no causaran daño al consumidor cuando se preparen y consuman de acuerdo con el uso a que se destinen.

Menudos (Menudencia). Son el conjunto de cabeza y pescuezo, molleja a la que se le ha quitado la grasa superficial y la membrana interna, corazón con o sin pericardio, patas e hígado al que se le ha quitado la vesícula biliar.

Mercado. Sitio público para comerciar.

Microaerofilia. Organismo que requiere oxígeno para sobrevivir, pero a concentraciones menores de las que hay en la atmósfera.

Microorganismos termotolerantes. Microorganismos que se desarrollan bien a temperaturas que oscilan entre 42 – 47°C. Este rango de temperatura se encuentra en el límite superior donde crecen los microorganismos mesófilos y el inferior donde lo hacen los termófilos.

Pollo. Ave de la especie *Gallus domesticus*, que no ha llegado al estado adulto y que es destinado para el consumo humano.

Pollo fresco. Es el pollo que ha sido procesado y mantenido a una temperatura entre 0 y 4°C.

Pollo congelado. Es el pollo que ha sido procesado, sometido a congelación y mantenido a una temperatura de -18°C o por debajo de ésta.

Termotolerante. Que resiste el calor; dicese de las bacterias cuya actividad no se detiene por una temperatura elevada.

Viable. Referido a un organismo capaz de desarrollarse, crecer o de cualquier otra forma mantener la vida.

Zoonosis. Infección que es transmitida de otros animales al hombre, usualmente por vectores. El término se emplea más específicamente para referirse a una enfermedad que normalmente existe en poblaciones animales y que, ocasionalmente se transmite al hombre como hospedero “accidental”.

III. MATERIALES Y MÉTODO

3.1. ÁREA DE ESTUDIO.

Las muestras de carcasas y menudos (hígados y mollejas) se tomaron en los diferentes puestos de venta en los mercados: Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Manco Capac, Pedro Vilcapaza y Plaza las Mercedes de la ciudad de Juliaca (anexo 2), ubicado en la provincia de San Román (imagen 1, anexo 1), departamento de Puno, país de ubicación Perú. Juliaca está situada a 3.824 msnm en la meseta del Collao, al noroeste del lago Titicaca (15,47°S 70,15°W). El clima de Juliaca es frío, moderadamente lluvioso y con amplitud térmica moderada: la media anual de temperatura máxima es 17,1°C y la mínima es de -0,9°C (IGP, 1995). Con respecto a la naturaleza del pollo de acuerdo a su procedencia son de origen industrial (Rico Pollo, San Fernando e Imba por lo general) y artesanal (Ave Fresco, El Corral, Avinor, Aves y Gallinas Frescas, El Pollon, Zarate, entre otros). El estudio de las muestras se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.2. TIPO DE ESTUDIO.

Investigación analítico - descriptivo de corte transversal.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.3.1. Universo.

Según la observación se realizó el recuento de mercados y puestos de expendio, mediante una encuesta oral se determinó el número de los pollos en expendio. De manera que se encontraron 5 mercados, 61 puestos de venta y 1.280 pollos (carcasas y menudos) de expendio por día.

3.3.2. Tamaño de Muestra.

El tamaño de muestra se determinó mediante el uso de la fórmula para variables cualitativas (Velasco *et al.*, 2002) (formula 1), de acuerdo a está formula se propuso el tamaño de muestra en carcasas de pollo que fue 54 y en menudos de pollo 81, además el muestreo realizado fue aleatorio simple o al azar.

Fórmula 1. Para variables cualitativas (una proporción).

$$n = \frac{p \cdot q \cdot Z^2}{d^2}$$

Donde:

p = proporción media del antecedente Lucas *et al.* (2013), para carcasas 0,17 y la proporción media del antecedente Calderón (2006), para menudos 0,40 con la característica de interés: *Campylobacter* spp.

q = $(1 - p)$ = Proporción media que no presenta la característica de interés: *Campylobacter* spp. (Carcasas = 0,83 y menudos = 0,6).

Z = valor de la distribución normal con el nivel de confianza del 95% = 1,96.

d^2 = precisión o error (carcasas = 0,13; menudos = 0,15).

El mínimo tamaño de muestra obtenido para carcasas de pollo es 32 y para menudos es 39.

3.4. METODOLOGÍA.

3.4.1. Identificación de especies termotolerantes de *Campylobacter* en las carcasas de pollos que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.

3.4.1.1. Toma de muestra.

- Se recolectaron 54 muestras de carcasa de pollo en los puestos de expendio de los mercados de la ciudad de Juliaca.
- Las muestras recolectadas se depositaron en bolsas estériles individuales.
- Se transportaron en un lapso de una hora aproximadamente al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Las muestras se procesaron inmediatamente.
(NTP, 2001; Farace y Viñas, 2007)

3.4.1.2. Cultivo *in vitro* para el aislamiento de *Campylobacter* sp.

a. Cultivo *in vitro* en agar sangre de Skirrow.

Fundamento.

El agar sangre de Skirrow es un medio selectivo utilizado para el aislamiento de *Campylobacter*, contiene una muestra antibiótica (vancomicina 10 mg/L, polimixina B 2.500 UI/L y trimetoprim 5 mg/L) que evita el desarrollo de otras bacterias y condiciona el desarrollo de *Campylobacter* (Koneman *et al.*, 2006). También el método de la jarra con vela por combustión de una vela, aportó una atmosfera aproximada de 17-19% de oxígeno y de 2-4% de dióxido de carbono, éste método tiene mejor rendimiento a 42-43°C que a 37°C (Farace y Viñas, 2007). Las especies termófilas *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* crecen óptimamente a 42-43°C (Koneman *et al.*, 2006; OIE, 2008).

Procedimiento:

- En el laboratorio se obtuvo una muestra representativa, donde se cortó, trozó (individualmente con un bisturí) y pesó 25 g de muestra (en una balanza analítica).
- La muestra representativa se colocó en una bolsa estéril, agregándosele 100 ml de agua peptonada al 0,1% (anexo 4), inmediatamente fueron remojados y masajeados por 2-5 minutos (método del enjuague) (Figura 7).
- Con un asa de kolle se tomó una alícuota y se sembró en placas de agar Skirrow modificado (anexo 4) por método de dispersión, usando la técnica de estrías.
- Las placas se incubaron a 42°C en una jarra de anaerobiosis (microaerofilia) durante 48 horas (Figura 8).
- Al término se analizaron las características culturales de las colonias. (Lucas *et al.*, 2013; Giacoboni *et al.*, 1999).

b. Características culturales de las especies de *Campylobacter*.

Las colonias de *C. jejuni*, *C. coli* y otras campilobacterias tienen las mismas características: Tamaño (pequeñas), color (blanco grisáceo, medianamente transparentes como gotas de agua), aspecto (mucoide, planas) y extendidas sobre la superficie del medio (efecto de Swarming), no hemolíticas (Figura 9) (Farace y Viñas, 2007). Para confirmar campilobacterias se realizó la Tinción de Gram modificada.

c. Coloración de Gram modificada.

Fundamento.

Las campilobacterias son bacterias Gram negativas, pero este microorganismo no se tiñe bien con la safranina (Farace y Viñas, 2007). Por lo que la técnica se modificó alargando el tiempo del reactivo safranina de entre 5 minutos hasta prolongar el reactivo por 10 minutos, de lo contrario el contraste podría ser muy pobre y difícil de visualizar a la bacteria (Torres, 1996; Koneman *et al.*, 2006).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva y se extendió en una lámina portaobjetos, secado a temperatura ambiente.
- Se cubrió con colorante cristal violeta por 1 minuto. Se lavó con agua corriente.
- Se cubrió con solución de yodo por 1 minuto. Se lavó con agua corriente.
- Se cubrió con alcohol acetona por 30 segundos. Se lavó con agua corriente.
- Se cubrió con safranina por 10 minutos. Se lavó con agua corriente.
- Se observó con aceite de inmersión en objetivo de 100X, registrándose resultados. (Torres, 1996; Koneman *et al.*, 2006).

3.4.1.3. Identificación de las especies de *Campylobacter*.

Para identificar las especies termotolerantes de *Campylobacter* se consideró todas las muestras sugestivas desarrolladas en agar Skirrow, a los cuales se les realizó las pruebas de identificación bioquímica: prueba de catalasa, prueba de oxidasa, prueba de reducción de nitratos, prueba de hidrólisis del hipurato y susceptibilidad al ácido nalidixico y cefalotina (tabla 2), como prueba para diferenciar especies.

a. Prueba de catalasa.

Fundamento.

Esta prueba permitió comprobar la presencia de la enzima catalasa que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (McFaddin, 2003).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva y se colocó en un portaobjetos limpio.
- Se agregó una gota del reactivo peróxido de hidrógeno al 3% (Lab. Portugal).
- El desprendimiento de abundantes burbujas (O_2 y H_2O) reveló la positividad de la prueba (figura 15). Se registró resultados.
(McFaddin, 2003).

b. Prueba de oxidasa.**Fundamento.**

La prueba de la oxidasa estuvo basada en la producción bacteriana de la enzima oxidasa. El método utilizado es el reactivo en tira (reactivo: oxalato de dimetil-*p*-fenilendiamina al 1%) (McFaddin, 2003).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva.
- Se extendió por frotación sobre la superficie de una tira de papel humedecido con agua destilada-desionizada que contenía reactivo oxidasa y se esperó 10 segundos.
- La aparición de un color púrpura oscuro o rojo oscuro indicó un resultado positivo, la ausencia de cambio de color indicó negatividad (figura 16). Se registró resultados.
(McFaddin, 2003).

c. Prueba de reducción de nitratos.**Fundamento.**

Para observar si la bacteria es capaz de reducir los nitratos en nitritos o en nitrógeno libre, esta reacción se realizó en condiciones anaeróbicas, se utilizó caldo nitrado al 2,5% y nitrato de potasio al 0,1%. A las 24 horas de incubación a 37°C los caldos inoculados se revelaron con 3 gotas del reactivo A (ácido sulfanílico 0,8 gramos, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100 ml) y 3 gotas del reactivo B (dimetil α naftilamina 0,5 gramos, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100 ml) (Farace y Viñas, 2007).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva de un cultivo.
- Se inoculó en un tubo con 2 ml de caldo nitrado (anexo 4).
- Se incubó a 42°C durante 24 horas.
- Después se agregó al tubo con cuidado 3 gotas de reactivo A (Sulphanilic acid, HIMEDIA) e inmediatamente se agregó 3 gotas de reactivo B (1-Naphthylamine AR, Central Drug House, CDH). La reacción fue inmediata.
- El color rojo vino rosado intenso indicó una reacción positiva y el no hay cambio de color fue una reacción negativa (figura 17). Se registró resultados.
(McFaddin, 2003).

d. Prueba de hidrólisis del hipurato (Procedimiento de Hwang y Ederer).**Fundamento.**

Esta prueba determinó la capacidad enzimática del microorganismo para hidrolizar el hipurato de sodio (ácido hipúrico) a ácido benzoico y glicina por acción de la enzima hipurato hidrolasa (hipuricasa). El método usado en esta investigación fue para determinar la presencia de glicina mediante el reactivo ninhidrina (MacFaddin, 2003).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva de un cultivo.
- Se inoculó en tubos preparados con 0,4 ml de hipurato de sodio (Hippuric acid, HIMEDIA) al 1% en agua destilada y se incubó por 2 horas a 37°C.
- Luego se agregó 0,2 ml (5 gotas) de ninhidrina (3,5 gramos de Ninhydrin AR, CDH) en 100 ml de mezcla 1:1 acetona y butanol, CDH) de manera lenta por las paredes del tubo (no agitar) y se incubó por 10 minutos a 37°C, prolongándolo hasta 30 minutos.
- La reacción se observó antes del término de 30 minutos, donde el color púrpura-azul oscuro (violeta cristal) indicó una reacción positiva, ningún cambio de color indicó reacción negativa (figura 18). Se registró resultados.
(McFaddin, 2003).

e. Susceptibilidad al ácido nalidíxico y a la cefalotina para diferenciar las especies de *Campylobacter*.

Fundamento.

Esta prueba se utilizó para identificar las especies termotolerantes de *Campylobacter* mediante la sensibilidad o resistencia a dos antibióticos que son el ácido nalidíxico y la cefalotina. El método que se realizó es el establecido para la realización de antibiograma (Farace y Viñas, 2007).

Procedimiento:

- Se tomó una asada de una colonia sugestiva de un cultivo.
 - Se inoculó en un tubo conteniendo 2 ml de caldo Mueller Hinton (anexo 4) y se incubó a 37°C en microaerofilia por 2 horas.
 - Luego, con un hisopo estéril se tomó una muestra del tubo con caldo Mueller Hinton y se inoculó en una placa de medio selectivo agar Mueller Hinton (anexo 4) por método de dispersión (método para antibiograma).
 - Se colocó el disco de ácido nalidíxico (Nalidixic acid 30 ug, OXOID) de 30 mg.
 - Se colocó el disco de cefalotina (Cefalotina 30 mcg, Valtek S.A.) de 30 mg.
 - Se incubó a 37°C en condiciones de microaerofilia por 24 horas.
 - Al término, se observó el halo de inhibición que indica la sensibilidad o resistencia a los antibióticos (figura 19 y 20).
 - Finalmente se registraron los resultados.
- (Farace y Viñas, 2007).

Tabla 2. Características bioquímicas de las principales especies termotolerantes de *Campylobacter*.

	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
	<i>jejuni</i>	<i>doyle</i>			
Hidrólisis del hipurato	+	+	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+
Producción de catalasa	+	+	+	+	- ó escaso
Reducción de nitratos	+	-	+	+	+
Reacción Ac. nalidixico	S	S	S	R	S
Reacción cefalotina	R	V	R	R	S

+: positivo -: negativo S: sensible R: resistente V: variable

Adaptado de Farace y Viñas, 2007.

3.4.1.4. Método estadístico.

a. Análisis de datos.

La prueba de ji-cuadrado de asociación (formula 3) permitió establecer si hay o no alguna diferencia entre dos o más frecuencias obtenidas en poblaciones con una característica de interés.

c. Límites de confianza.

Los límites de confianza o intervalos de confianza (formula 2) nos permitieron discutir los resultados obtenidos en ésta investigación con respecto a otras investigaciones.

Fórmula 2. Fórmula para halla Intervalo de confianza para una proporción:

$$I = \left[\bar{P} \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\bar{P}(1 - \bar{P})}{n}} \right]$$

Donde:

I : Intervalo de confianza para una proporción.

\bar{P} : Proporción esperada del antecedente con la característica de interés.

$z_{\alpha/2}$: Nivel de confianza $1 - \alpha = 0.95$

n : Número total de muestras examinadas.

3.4.2. Identificación de especies termotolerantes de *Campylobacter* en los menudos de pollos (hígados y mollejas) que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.

La metodología que se utilizó para éste objetivo es también la planteada para el primer objetivo, variando el tipo de muestra que es menudos de pollo (hígados y mollejas). Se realizó en el periodo de estudio que comprendió entre setiembre del 2016 a enero del 2017, en el laboratorio de Microbiología de la UNA Puno. Se procesaron 81 muestras de menudo de pollo (41 de hígado y 40 de molleja) que se colectaron en expendios de los mercados: Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes de la ciudad de Juliaca.

3.4.2.1. Método estadístico.

El método estadístico que se utilizó para éste objetivo es también la planteada para el primer objetivo. Se utilizó la prueba de ji-cuadrado de asociación (formula 3) permitió establecer si hay o no alguna diferencia entre dos o más frecuencias obtenidas y los límites de confianza (formula 2) nos permitieron discutir los resultados obtenidos en éste estudio con otros.

3.4.3. Estimación de la frecuencia de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas y menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales y avícolas industriales que abastecen a los mercados de la ciudad Juliaca.

Para cumplir éste objetivo se realizó con los resultados obtenidos de las 54 muestras de carcasa de pollo obtenidas en el primer objetivo y 81 muestras de menudo de pollo obtenidas del segundo objetivo (muestras obtenidas en los mercados Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes de la ciudad de Juliaca), estudio que se realizó en un tiempo que comprendió de setiembre del 2016 a enero del 2017. Donde, 23 muestras de carcasa corresponden a avícolas de procedencia artesanal y 31 carcasas son de avícolas de procedencia industrial. En menudo de pollo 30 muestras corresponden a avícolas de procedencia artesanal y 51 son de avícolas de procedencia industrial. Para estimar la frecuencia de las especies *C. coli* y *C. jejuni* en carcasas y menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales y avícolas industriales que abastecen a los mercados de la ciudad Juliaca, se realizó mediante la prueba de ji-cuadrado (X^2).

3.4.3.1. Método estadístico.

El análisis de datos se realizó mediante la siguiente prueba:

a. Prueba de X^2 (ji-cuadrado o Chi-cuadrado) de asociación.

La prueba de ji-cuadrado de asociación (formula 3) permitió establecer si hay o no alguna diferencia entre dos o más frecuencias obtenidas en poblaciones con la característica de interés, la fórmula estadística fue la siguiente:

Fórmula 3. Fórmula para contrastar la diferencia entre frecuencias:

$$\chi_c^2 = \sum_{i=1}^f \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Donde:

χ_c^2 : ji-cuadrado calculado

O_{ij} : Frecuencias observadas

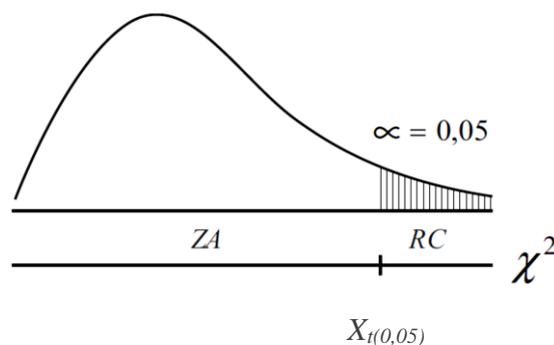
E_{ij} : Frecuencias esperadas

f y c : filas y columnas respectivamente

Esta prueba se realizó para analizar la existencia de significancia del factor (variable) en estudio, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$).

b. Contrastación de hipótesis:

Si: $H_0 : O_{ij} = E_{ij}$
 $H_1 : O_{ij} > E_{ij}$



Si $X_c^2 = X_{t(0,05)}$: se acepta la hipótesis H_0 ; se rechaza la H_1 .

Si $X_c^2 > X_{t(0,05)}$: se acepta la hipótesis H_1 ; se rechaza la H_0 .

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación de las especies termotolerantes de *Campylobacter* en carcasas de pollos que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.

Tabla 3. Especies de *Campylobacter* termotolerante* en carcasas de pollo de la ciudad Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Diagnóstico	Positivo		Negativo		Total	
Especie	N	%	N	%	N	%
<i>C. jejuni</i>	11	20,37	43	79,63	54	100,00
<i>C. coli</i>	3	5,56	51	94,44	54	100,00
<i>C. lari</i>	1	1,85	53	98,15	54	100,00
Total	15	27,78	39	72,22	54	100,00

* Campilobacterias cuya actividad no se detiene por una temperatura elevada, siendo la temperatura óptima para su crecimiento 42°C en cultivos *in vitro*.

$$\chi_c^2 = 12.34 > \chi_{t(0.05,2)}^2 = 5.99 \text{ Signif. (p=0.002)}$$

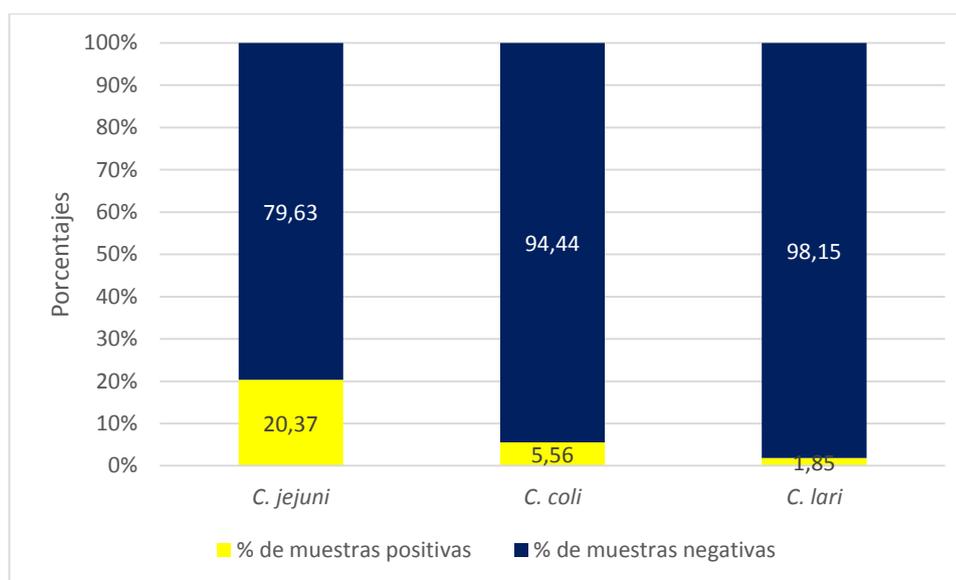


Figura 1. Porcentaje de especies de *Campylobacter* termotolerantes en carcasas de pollo de la ciudad Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

En la Tabla 3 y Figura 1, se muestran las especies termotolerantes identificadas en carcasas de pollo donde *C. jejuni* presentó un valor porcentual de 20,37%, siendo la especie más aislada de las tres evaluadas, en segundo lugar de importancia *C. coli* con 5,56% y con el menor valor porcentual *C. lari* con 1,85%, resultando un total de 27,78% muestras positivas que presentaron *Campylobacter* sp. El análisis estadístico con prueba de Ji cuadrado determino la existencia de diferencia estadística significativa ($p=0,002$), interpretándose una mayor frecuencia de *C. jejuni* en carcasas de pollo.

Tabla 4. Intervalos de confianza (95%) de porcentajes positivos de especies de *Campylobacter* termotolerantes en carcasas de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especies	Frecuencia media (%)	I. Inferior (%)	I. Superior (%)
<i>C. jejuni</i>	20,37	9,30	31,50
<i>C. coli</i>	5,56	0,00	11,9
<i>C. lari</i>	1,85	0,00	5,57

I. - intervalo

La tabla 4, muestra el intervalo de confianza para los porcentajes positivos de especies termotolerantes de *Campylobacter* en carcasas de pollo, en la que *C. jejuni* se encuentra entre 9,30 a 31,50%, *C. coli* entre 0 a 11,9% y *C. lari* en el rango de 0 a 5,57%.

En referencia a los aislamientos e identificación de las especies de campilobacterias termotolerantes en carcasas de pollo de ésta investigación, destacamos que la metodología utilizada para éste fin se basó en pruebas bioquímicas, donde las especies reportadas fueron *C. jejuni* (20,37%), *C. coli* (5,56%) y *C. lari* (1,85%). Comparando con una investigación de similar metodología realizado en Perú, en la ciudad de Iquitos por Lozano (2016), en muestras de carne de pollo reportó las especies *C. jejuni* y *C. coli* en porcentajes de 11,7% y 9,4% respectivamente, evidenciando que ambas especies muestran un resultado similar respecto a ésta investigación, además cabe agregar que el estudio en Iquitos no se reporta la especie *C. lari*, la cual si está presente en éste estudio.

Un aspecto a considerar en la diferencia de resultados seria las características geoclimatológicas de las ciudades, donde el estudio que realizó Lozano (2016), tiene como escenario la ciudad de Iquitos de clima cálido, tropical, con condiciones apropiadas

para suponer mayores hallazgos de especies de *Campylobacter* a diferencia de un clima no propicio como de Juliaca (de altura altiplánica, frío y seco). Pero los resultados muestran que las características geoclimatológicas no parecen ser un factor determinante en la ausencia o presencia mínima de campilobacterias termotolerantes en carcasas de pollo.

Con un diferente método para identificar especies de *Campylobacter* termotolerante, el estudio realizado en el gran área metropolitana de Costa Rica donde Zumbado *et al.*, (2014), utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR multiplex), para la determinación las especies de *Campylobacter* en carne de pollo a la venta, reportando para *C. jejuni* un 50,0% y para *C. coli* un 4,2%, nótese que la especies *C. jejuni* es mayor a lo reportado en éste estudio, a diferencia de *C. coli* que presenta un resultado muy similar. Con la misma técnica (PCR multiplex) para identificar especies, Valentini *et al.*, (2015), en Mendoza-Argentina, realizó una investigación en canales de pollo donde reportó para *C. jejuni* (13,0%) un valor similar respecto a éste estudio, pero la especie *C. coli* (9,0%) con un valor similar, además reportó a ambas especies en un 3,0% de muestras, situación que no sucedió en ésta investigación.

También en Costa Rica, Jiménez (2016), identificó las especies *C. jejuni* (64,1%) y *C. coli* (1,8%), utilizando la técnica de PCR multiplex, donde *C. jejuni* presenta un reporte mayor respecto a ésta investigación, a diferencia de *C. coli* que es similar. En el estudio de Jiménez (2016), también se reportó para ambas especies un 7,5%, situación que no sucedió en esta investigación, ya que estas dos especies se diferenciaron por la prueba de la hidrólisis del hipurato que indicó positiva para *C. jejuni* y negatividad para *C. coli* (McFaddin, 2003), evitando resultados mixtos.

Otros investigadores reportan las especies identificadas de campilobacterias termotolerantes de una manera diferente. Así tenemos, en Del Pilar-Argentina a Giacoboni *et al.* (2002), quien reportó un 60,0% para *Campylobacter* sp. en carne de pollo y las especies identificadas fueron *C. jejuni* (83,3%) y *C. coli* (16,6%). También en San José-Costa Rica a Antillón *et al.* (1991), reportó un 63,0% para *Campylobacter* sp. en pollos enteros e identificó las siguientes especies: *C. jejuni* (57%), *C. coli* (27%) y *C. laridis* (*C. lari*) con un 16%, donde los reportes evidencian un notorio predominio de *C. jejuni* respecto a *C. coli*, similar a los hallazgos de éste estudio, además se reportó la

especie *C. lari* que también fue identificada en éste estudio. Los bajos hallazgos de *C. coli* respecto a *C. jejuni* en carne de pollo, se darían porque *C. coli* tiene inclinación por hospederos como los cerdos, razón por la cual se aísla más frecuentemente en carne de cerdos (Elika, 2006).

Igualmente, con un estilo diferente a éste estudio en la ciudad de Lima-Perú, el reporte de Lucas *et al.* (2013), en canales de pollo, muestra a *Campylobacter* sp. con un 16,7% y aisló las especies *C. jejuni* (60,0%) y *C. coli* (40,0%), evidenciando el esperado predominio de *C. jejuni* sobre *C. coli*, reportado en otros estudios y ésta investigación. Comparando los hallazgos de las especies de campilobacterias de éste estudio que fue un total de 27,78% correspondiente a *Campylobacter* sp., es un porcentaje mayor al resentado por Lucas *et al.* (2013). Éstas pueden estar relacionadas a factores, como los métodos utilizados en investigación influyen en los aislamientos de *Campylobacter* como lo refiere García *et al.* (2013), la investigación de Lucas *et al.* (2013), es de similar metodología a éste estudio, variando en las características de la muestra, donde éste investigador las tomó exentas de manipulación y en ésta investigación fue en lugares con actividades de alta manipulación sobre las carcasas de pollo, actividad que genera contaminación cruzada (AESAN, 2012; Klotz *et al.*, 2013).

En referencia a los hallazgos de *Campylobacter* sp. (27,78%), en carcasas de pollo de ésta investigación, existe similitud a lo hallado por Moreno (2015), en la ciudad de Cuenca, Ecuador (30,67%). Contraponiendo resultados, otros estudios reportan valores elevados para *Campylobacter* sp. respecto a éste estudio: en la ciudad de San José-Costa Rica se reportó un 60,42% (Zumbado y Romero, 2016), en la ciudad capital de Guatemala reportó un 40% (Calderón, 2006) y en la Comarca Lagunera de Durango-México se reportó un 81,0% (Rodríguez *et al.*, 2016). Otro estudio evidencia valores bajos para *Campylobacter* sp. respecto a éste estudio, reportado en la ciudad de Mixco de Guatemala con un valor de 1.78% (Guerra, 2017).

Ésta variedad de reportes de *Campylobacter* sp., estaría relacionados a factores en las metodologías de estudios, en el muestreo, la utilización de diferentes métodos de aislamiento, entre otros como lo refiere García *et al.* (2013). Como la utilización de un medio de enriquecimiento con suplemento antibiótico facultando al crecimiento de *Campylobacter*, disminuyendo la microbiota competitiva y recuperando la vitalidad

disminuida o lesionada de la bacteria por condiciones ambientales, de almacenamiento y procesado (Farace y Viñas, 2007), metodología que explicaría los altos resultados de Calderón (2006). En diferencia, el método de enjuague en agua peptonada al 0,1%, técnica que no reprime la microbiota competitiva y tampoco recupera la vitalidad de *Campylobacter*, explicaría los bajos resultados presentados por Guerra (2017), aun así no implicó que Moreno (2015) y éste estudio se obtuvieran mayores reportes.

Con respecto a los medios de cultivo selectivos para campilobacterias termotolerantes, son importantes por los nutrientes específicos y suplementos antibióticos que poseen, facultando la mayor selectividad para generar un aislamiento exitoso (Koneman *et al.*, 2006). El medio específico agar Skirrow utilizado por Antillón *et al.* (1991), Giacoboni *et al.* (2002), Calderón (2006), Moreno (2015), Lozano (2016) y también en éste estudio, contiene un suplemento antibiótico (vancomicina 10 mg/L, polimixina B 2.500 UI/L y trimetoprim 5 mg/L) diferente al medio para *Campylobacter* mCCDA (cefoperazona 32 mg/L y anfotericina B 10 mg/L) utilizado por Lucas *et al.* (2013). Es de notar que el agar Skirrow posee más antibióticos que inhiben la microbiota Gram negativa y Gram positiva, a diferencia del mCCDA que sólo posee cefoperazona, con más influencia en bacterias Gram negativas, además el mCCDA posee anfotericina B inhibidora de la microbiota fúngica, aun así en éste estudio no se observó el crecimiento de hongos. Contrariando, Guerra (2017), utilizó el método de filtración en agar sangre, tal vez influyendo en aislamientos muy bajos. Ya que los medios selectivos amplían las probabilidades de éxito en el aislamiento de campilobacterias (Koneman *et al.*, 2006).

Cabría pensar que en países desarrollados, la industria de alimentos por la tecnología y un mejor control sanitario garantizaría la inocuidad de la carne de pollo, expendidos en comercios. El informe del comité científico de la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) recogió datos de la presencia de *Campylobacter* sp. en carne de pollo a la venta del comercio minorista de países de la Unión Europea. Donde se reportaron valores elevados de *Campylobacter* sp. respecto a éste estudio en República Checa (75,0%), Francia (90,1%), Eslovenia (78,3%), Dinamarca (46,2%), Hungría (43,3%), Luxemburgo (58,8%), también existiendo bajos reportes con respecto a ésta investigación en Austria (3,1%), Bélgica (12,1%), Lituania (10,0%), Holanda (9,9%), pero en Alemania (28,5%) y España (25,4%), se reportaron resultados similares a éste estudio (AESAN, 2012).

Por lo tanto, afirmamos que para el aislamiento de campilobacterias termotolerantes son importantes la utilización de diferentes métodos de aislamiento, como lo refiere García *et al.* (2013). La utilización de un medio de cultivo selectivo genera un aislamiento exitoso (Koneman *et al.*, 2006). Entre los mayores hallazgos de la especie *C. jejuni* se debe a que posee sistemas regulatorios para un entorno hostil en el intestino de los pollos (OIE, 2008), siendo la más adaptada a éstas aves, en diferencia a *C. coli* que se encuentra con más frecuencia en cerdos (Elika, 2006) y *C. lari* más presente en gaviotas y aves marinas (Mardones y López, 2017).

Tabla 5. Especies de *Campylobacter* termotolerantes en carcasas de pollo expendidos en cinco mercados de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especies	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>				<i>C. lari</i>			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
Diagnóstico	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Plaza las Mercedes	1	1,85	11	20,37	0	0,00	12	22,22	0	0,00	12	22,22
Manco Capac	2	3,70	2	3,70	0	0,00	4	7,41	0	0,00	4	7,41
Santa Bárbara	4	7,41	14	25,93	2	3,70	16	29,63	0	0,00	18	33,33
Pedro Vilcapaza	0	0,00	6	11,11	1	1,85	5	9,26	0	0,00	6	11,11
Túpac Amaru II	4	7,41	10	18,52	0	0,00	14	25,93	1	1,85	13	24,07
Total	11	20,37	43	79,63	3	5,56	51	94,44	1	1,85	53	98,15

$$\chi_c^2 = 5.39 < \chi_{(0.05,4)}^2 = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.250) } C. jejuni$$

$$\chi_c^2 = 4.23 < \chi_{(0.05,4)}^2 = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.375) } C. coli$$

$$\chi_c^2 = 2.91 < \chi_{(0.05,4)}^2 = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.573) } C. lari$$

La tabla 5, muestra las especies termotolerantes identificadas en carcasas de pollo respecto a los mercados evaluados, donde se determinó que *C. jejuni* mostró un mayor porcentaje de aislamientos en carcasas de pollo expendidas en el mercado Santa Bárbara 7,41% y Túpac Amaru II 7,41%, en el mercado Pedro Vilcapaza no se determinó la presencia de esta especie. *C. coli* tuvo mayor porcentaje de aislamientos en el mercado Santa Bárbara con 3,70%, *C. lari* presentó mayor porcentaje de aislamientos en el

mercado Túpac Amaru II con 1,85%. El análisis estadístico con prueba de Ji cuadrado determinó la no existencia de diferencia estadística ($p > 0,05$) para las tres especies, interpretándose que los mercados no se asocian con la presencia de las especies de *Campylobacter* termotolerante en carcasas de pollo.

Con respecto a los aislamientos de *C. jejuni* por mercados, en carcasas de pollo, encontramos otros estudios con reportes diferentes a lo descrito en éste. En la ciudad de Iquitos Lozano (2016), determinó la presencia de *C. jejuni* en los mercados Modelo (16,1%) y Belén (8,3%), con un reporte en el mercado Modelo mayor a los mercados evaluados en éste estudio, en cambio el resultado del mercado Belén muestra similitud a los mercados Santa Bárbara y Túpac Amaru II de éste estudio, pero mayor a Manco Capac, Plaza las Mercedes y Pedro Vilcapaza (véase tabla 5). Por otra parte en Costa Rica, Zumbado *et al.* (2014), evaluó tres mercados provinciales, de los cuales, en dos se reportó a *C. jejuni* con resultados mayores a los hallados en mercados de éste estudio, así tenemos un 25,0% en San José y un 16,66% en Heredia. De manera diferente, en el mercado de Alajuela (8,33%) el reporte es similar a los mercados Túpac Amaru II y Santa Bárbara de éste estudio.

Con respecto a los aislamientos de *C. coli* por mercados de carcasas de pollo, encontramos resultados que muestran mayores hallazgos en el estudio que realizó Lozano (2016), en la ciudad de Iquitos, donde reportó en el mercado Modelo para *C. coli* un 14,3% y en Belén un 5,6%. A diferencia de Zumbado *et al.* (2014), quien reportó en el mercado de San José (4,2%) un valor similar al mercado Santa Bárbara, pero mayor al de Pedro Vilcapaza de éste estudio.

Los resultados positivos de *Campylobacter* en carcasas de pollo para consumo humano evidencian un problema para la salud, éstas carcasas de pollos que se expenden en los mercados pueden ya estar contaminados en la cadena de producción del pollo (Moore *et al.*, 2005) por *C. jejuni*, *C. coli* y otras campilobacterias. En los puestos de mercados, las actividades de alta manipulación sobre las carcasas de pollo (desprese, el retiro de piel y el fileteado) generan contaminación cruzada (Klotz *et al.*, 2013). De tal manera, que en el estudio realizado en comercios locales del barrio Inta de Buenos Aires-Argentina, López *et al.* (2003), reporto para la especie *C. jejuni* un 92,8%, que respecto a los mercados de éste estudio es un valor muy superior.

Cabe recalcar que las campilobacterias a pesar de que es muy susceptible a condiciones medioambientales en los mercados, pueden sobrevivir por sobre 24 días en la carne de pollo, en superficies inertes, vidrio, acero inoxidable, plástico, también en agua, resistiendo el estrés por su capacidad de formar biopelículas, que son una forma de persistencia y diseminación a condiciones adversas (Mardones y López, 2016).

Finalmente, afirmamos que las campilobacterias termotolerantes están presentes en la carne de pollo que se expende en los mercados, por lo que se acepta la hipótesis nula. Siendo las especies encontradas en ésta investigación, las más patógenas para el hombre (Trachoo, 2003), a pesar de ser sensible a condiciones medio ambientales (AESAN, 2012), su presencia en la carne de pollo en los mercados se debería a que estas bacterias pueden sobrevivir en superficies cárnicas (Hernández, 2007).

4.2. Identificación de las especies termotolerantes de *Campylobacter* en menudos (hígados y mollejas) de pollos que se expenden en los mercados de Juliaca, a través de cultivos *in vitro* y pruebas de identificación bioquímica.

Tabla 6. Especies de *Campylobacter* termotolerante* en menudos de pollo (hígados y mollejas) de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Diagnóstico	Positivo		Negativo		Total	
Especie	N	%	N	%	N	%
<i>C. jejuni</i>	4	4,94	77	95,06	81	100,00
<i>C. coli</i>	4	4,94	77	95,06	81	100,00
<i>C. lari</i>	1	1,23	80	98,77	81	100,00
Total	9	11,11	72	88,88	81	100,00

* Crecimiento *in vitro* a temperatura de 42°C.

$\chi_c^2 = 2.07 < \chi_{t(0.05,2)}^2 = 5.99$ No Signif. (p=0.354)

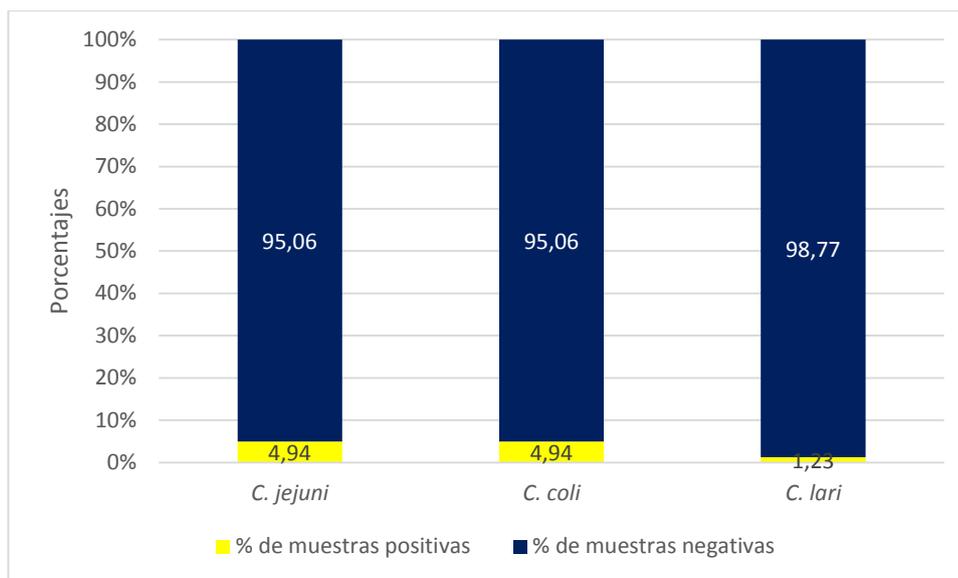


Figura 2. Porcentaje de especies de *Campylobacter* termotolerantes en menudos de pollo (hígados y mollejas) de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

La tabla 6 y figura 2, se muestran las especies termotolerantes de *Campylobacter* identificadas en menudos de pollo (hígados y mollejas), donde *C. jejuni* presentó una positividad en valor porcentual de 4,94% y *C. coli* con 4,94% siendo las más aisladas y con la menor positividad en valor porcentual de aislamientos *C. lari* con 1,23%, resultando un total de 11,11% muestras positivas para *Campylobacter* sp. El análisis estadístico con prueba de Ji cuadrado determinó la no existencia de diferencia estadística ($p=0,354$), interpretándose que las tres especies presentan similares frecuencias en menudos de pollo.

Tabla 7. Intervalos de confianza (95%) de porcentajes positivos de especies de *Campylobacter* termotolerantes en menudos de pollo de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especies	Frecuencia media (%)	I. Inferior (%)	I. Superior (%)
<i>C. jejuni</i>	4,94	0,00	10,0
<i>C. coli</i>	4,94	0,00	10,0
<i>C. lari</i>	1,23	0,00	4,0

I. - intervalo

La tabla 7, muestra el intervalo de confianza para las especies termotolerantes de *Campylobacter*, donde los porcentajes positivos de *C. jejuni* que se encuentra entre 0 a 10%, *C. coli* entre 0 a 10% y *C. lari* en el rango de 0 a 4%.

Con respecto a las especies termotolerantes identificadas en menudos de pollo (hígados y mollejas) en ésta investigación muestra variabilidad con otras investigaciones, el estudio realizado por Giacoboni *et al.* (1999), muestra similitud en el método de identificación por la utilización de pruebas bioquímicas, donde identificó las especies *C. jejuni* (35,0%) y *C. coli* (0,8%), comparándolo con los reportes de éste estudio, muestra que la especie *C. jejuni* presenta un reporte mayor y en diferencia de *C. coli* con un valor similar. También mediante pruebas bioquímicas en Bosnia Herzegovina, Alagic *et al.* (2016), identificó la especie *C. jejuni* (9,5%) con un resultado que se asemeja a lo hallado en éste estudio, éste investigador no reportó otras especies de campilobacterias termotolerantes.

En relación a los aislamientos en menudos de pollo de especies de *Campylobacter* respecto a ésta investigación muestra diferencias con los reportes de Giacoboni *et al.* (1999). Ésta diferencia de resultados pueden estar sujetas al método, previo al cultivo en este estudio se utilizó el método de enjuague en agua peptonada al 0,1%, en cambio Giacoboni *et al.* (1999), utilizó un previo enriquecimiento en caldo Brucella con suplemento antibiótico que favorecería mayores hallazgos explicando los altos reportes y los bajos de éste estudio. Con respecto al cultivo Giacoboni *et al.* (1999) y en éste estudio se utilizó el agar Skirrow, no generando diferencias de resultados.

Hoy en día los investigadores se valen de una gran variedad de metodologías para identificar las especies termotolerantes de *Campylobacter*, dando múltiples caminos con un mismo fin. Como el estudio realizado en Argentina por Valentini *et al.*, (2014), en hígados de pollo (menudo de pollo), utilizó el PCR multiplex para identificar la especie *C. jejuni* (12,0%), con un reporte mayor al de éste trabajo, pero no encontró otras especies de *Campylobacter* termotolerantes. en los estudio los resultados reportados por PCR multiplex y pruebas bioquímicas (microbiología tradicional) evocan conclusiones similares donde *C. jejuni* tiene mayor predominio respecto a *C. coli* y otras especies.

Además del PCR multiplex, en el mercado actual existen otros métodos para identificar las especies termotolerantes de *Campylobacter*. Es así que, en el estudio realizado en La Habana por Jordán (2014), en vísceras (hígados e intestino) de gallinas de un matadero utilizó el Kit Apy-Campy reportando cinco especies: *C. coli* (20,6%), *C. jejuni* (3,1%), *C. upsaliensis* (1,5%), *C. fetus* (1,5%) y *C. fecali* (1,5%). Cabe mencionar que en el

estudio de Jordán (2014), se identifican tres especies que no se determinaron en ésta investigación y tampoco mencionada por otros autores. Además que *C. coli* es la campilobacteria predominante, donde la causa de éste predominio estaría, en que hígados e intestinos están reportados en conjunto, donde los intestinos son fuente de contaminación en la faena del pollo (Klotz *et al.*, 2013). Respaldo esta afirmación, el estudio de Valentini *et al.* (2015), muestran que en ciegos de pollo los reportes de *C. coli* (37,0%) son mayores a los de *C. jejuni* (10,0%).

Una causa de que haya una alta probabilidad en que lo menudos de pollo lleguen a los comercios contaminados con *Campylobacter* sp., es porque éstos productos se contaminarían tanto en las granjas de crianza (García *et al.*, 2013), Como en la cadena de producción, los menudos de pollo se contaminen en la etapa de beneficio, donde la principal fuente sería el intestino del pollo (Klotz *et al.*, 2013). El intestino el lugar donde reside y se multiplica la bacteria, lo cual explicaría los valores altos encontrados por Jordán (2014).

Respecto al método para aislamientos de *Campylobacter* termotolerante en menudos de pollo, se utilizaron medios de cultivo selectivos específicos para garantizar el éxito. Los estudios realizados por Calderón (2006), Alagic *et al.* (2016), Jordán (2014), utilizaron medios de enriquecimiento (caldo Brain Heart Infusión, Caldo Preston y caldo Bolton respectivamente), favoreciendo la recuperación disminuida o lesionada de la bacteria (Farace y Viñas, 2007), en ésta investigación no se utilizó medio de enriquecimiento, sino agua peptonada al 0,1%. Con respecto a los medios de cultivo selectivos, Calderón (2006), Alagic *et al.* (2016), Jordán (2014) y en éste estudio, se cultivó en medio selectivo Skirrow con suplemento antibiótico de vancomicina 10 mg/L, polimixina B 2.500 UI/L y trimetoprim 5 mg/L, por lo que no implicaría diferencias en los aislados reportados para *Campylobacter* sp.

Por lo tanto, afirmamos que en menudos de pollo (hígados y mollejas) son importantes la utilización de un medio de cultivo selectivo genera un aislamiento exitoso (Koneman *et al.*, 2006). La similitud entre los hallazgos de las especies de campilobacterias termotolerantes se debería a contaminación cruzada por parte del intestino en al beneficio del pollo (Klotz *et al.*, 2013), ya que hay estudios ya mencionados que muestran mayores reportes de *C. coli* que de *C. jejuni* en ciegos de pollos.

Tabla 8. Especies de *Campylobacter* termotolerantes en menudos de pollo (hígados y mollejas) expendidos en cinco mercados de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especie	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>				<i>C. lari</i>			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
Diagnostico	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Plaza las Mercedes	2	2,47	14	17,28	0	0,00	16	19,75	0	0,00	16	19,75
Manco Capac	1	1,23	9	11,11	1	1,23	9	11,11	0	0,00	10	12,35
Santa Bárbara	0	0,00	22	27,16	2	2,47	20	24,69	0	0,00	22	27,16
Pedro Vilcapaza	0	0,00	11	13,58	1	1,23	10	12,35	0	0,00	11	13,58
Túpac Amaru II	1	1,23	21	25,93	0	0,00	22	27,16	1	1,23	21	25,93
Total	4	4,94	77	95,06	4	4,94	77	95,06	1	1,23	80	98,77

$$\chi^2_c = 4.21 < \chi^2_{t(0.05,4)} = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.378) } C. jejuni$$

$$\chi^2_c = 3.73 < \chi^2_{t(0.05,4)} = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.443) } C. coli$$

$$\chi^2_c = 2.71 < \chi^2_{t(0.05,4)} = 9.49 \text{ No Signif. (p=0.607) } C. lari$$

La tabla 8, muestra las especies termotolerantes identificadas en menudos de pollo respecto a los mercados evaluados, donde se determinó que *C. jejuni* mostró mayor porcentaje de aislamientos en menudos de pollo expendidas en el mercado Plaza las Mercedes 2,47%, *C. coli* tuvo mayor porcentaje de aislamientos en el mercado Santa Bárbara con 2,47% y *C. lari* presentó mayor porcentaje de aislamientos en el mercado Túpac Amaru II con 1,23%. El análisis estadístico con prueba de Ji cuadrado determinó la no existencia de diferencia estadística ($p > 0,05$) para las tres especies, interpretándose que los mercados no se asocian con la presencia de las especies de *Campylobacter* termotolerante en menudos de pollo.

Se ha observado que los menudos de pollo en expendio se presentan de muchas maneras, separadas en empaques, sueltas al menudeo, dentro de la carcasas o en conjunción con el cuerpo del pollo en expendio, lo que conlleva que en puestos de expendio, haya actividades de alta manipulación generando contaminación cruzada (AESAN, 2012; Klotz *et al.*, 2013). Además de la capacidad de las campilobacterias de formar biopelículas (biofilm), que les ayuda a sobrevivir y diseminarse en condiciones adversas (Mardones y López, 2016).

Así, el estudio realizado en cuatro comercios de la ciudad de La Plata por Giacoboni *et al.* (1999), con el fin de aislar *Campylobacter* sp. en menudencia de pollo, encontró a *C. jejuni* (35,0%) en dos de los cuatro comercios, con un valor superior a todos los mercados de esta investigación, en contraste la especie *C. coli* (0,8%) se encontró en un expendio con un valor similar al reportado en todos los mercados de éste estudio.

En consecuencia, se confirma la presencia de las campilobacterias termotolerantes en menudos de pollo (hígados y mollejas) por lo que se acepta la hipótesis nula, ésta presencia se debe a la contaminación de los menudos en el faenado del pollo, procesos como el eviscerado producen contaminación (Klotz *et al.*, 2013) y también en el expendio se produce contaminación cruzada por manipulación del producto (AESAN, 2012). Por tales motivos, es un riesgo para la salud pública.

4.3. Estimación de la frecuencia de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas y menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales y avícolas industriales que abastecen a los mercados de la ciudad Juliaca.

Tabla 9. Frecuencia de las especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales expendidos en la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especie	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>				Total	
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo			
Diagnóstico	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Artesanal	9	16,67	14	25,93	2	3,70	21	38,89	23	42,59
Industrial	2	3,70	29	53,70	1	1,85	30	55,56	31	57,41
Total	11	20,37	43	79,63	3	5,56	51	94,44	54	100,00

$\chi_c^2 = 8.69 > \chi_{r(0.05,1)}^2 = 3.84$ Signif. (p=0.003) *C. jejuni*

$\chi_c^2 = 0.75 < \chi_{r(0.05,1)}^2 = 3.84$ No Signif. (p=0.386) *C. coli*

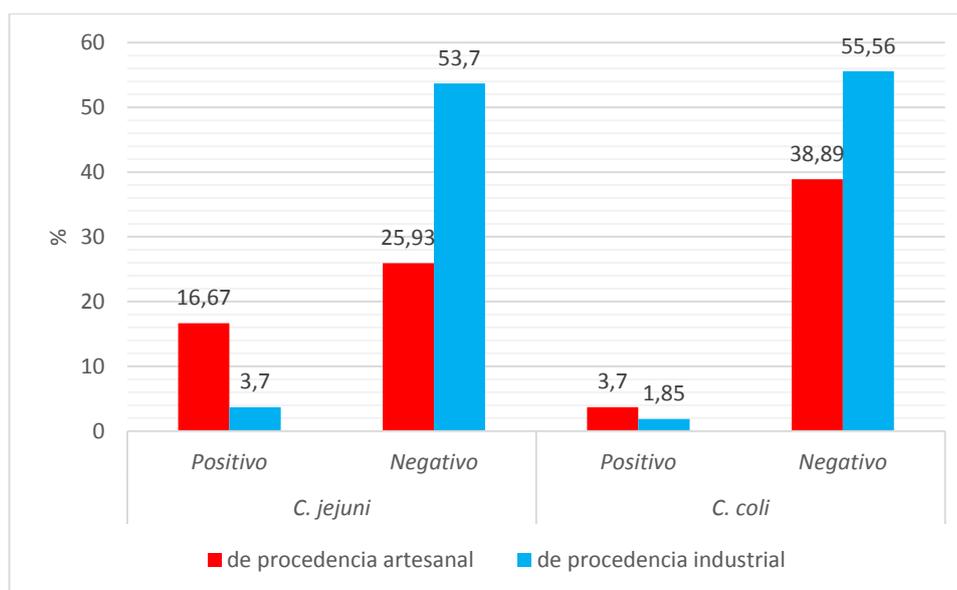


Figura 3. Frecuencia en porcentajes de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales expendidos en la ciudad de Juliaca octubre 2016 – enero 2017

En la tabla 9 y figura 3, muestra los resultados obtenidos según la procedencia de carcasas de pollo, se tiene que *C. jejuni* presentó mayor frecuencia en pollos de procedencia artesanal con 16,67% de muestras positivas, *C. coli* también presentó mayor frecuencia en pollos de dicha procedencia con 3,70%. El análisis estadístico mediante la prueba de Ji cuadrado indica para *C. jejuni* la existencia de diferencia estadística significativa ($p=0,003$), señalando que su presencia es mayor en carcasas de pollo de origen artesanal, para *C. coli* no existió diferencia estadística, atribuible a las frecuencias bajas de su presencia.

En contraste con los resultados de ésta investigación en pollo de expendio por procedencia, Zumbado *et al.* (2014) realizó una investigación en carcasas de pollos procedentes de una planta de procesamiento avícola (industria), donde reportó para *C. jejuni* (50,0%) un resultado mayor en carcasas de procedencia artesanal e industrial respecto a lo hallado en éste estudio. Al parecer los procesos tecnificados en avícolas industriales no implican en una enorme variabilidad de la frecuencia de *C. jejuni* en la carne de pollo. No obstante, se da por hecho que *C. jejuni* está presente en carcasas de pollo sin distinción de la procedencia de las avícolas, es así que otros estudios en carcasas de pollo procedentes de plantas de procesamiento avícola (industrial) evidencian frecuencias similares a las carcasas procedentes de avícolas artesanales de éste estudio, como Valentini *et al.*

(2015) quien mostró un 13%, Figueroa (2006) quien reportó un 12,0%, Alagic *et al.* (2016) con un 17,9% y Carmona (1985) con un 13,33%.

Con respecto a la especie *C. coli*, en éste trabajo se reportó una frecuencia de 3,7% y 1,85% en carcasas de pollo procedentes de avícolas artesanales e industriales respectivamente, mostrando similitud con estudios en carcasas de pollo procedentes de plantas de procesado avícola (industrial) realizados por otros investigadores, así se tiene en Costa Rica a Zumbado *et al.* (2014) con un 4,2% y en Bosnia Herzegovina a Alagic *et al.* (2016) con un 1,2%. No obstante el resultado obtenido por Valentini *et al.* (2015) también en carcasas de pollo en plantas de procesado avícola (industrial) (9,0%), mostró una frecuencia mayor a lo obtenido en carcasas de pollo de procedencia industrial y artesanal de éste trabajo.

Sean los pollos de procedencia artesanal o industrial, en la crianza *Campylobacter* coloniza las poblaciones avícolas extremadamente rápido, tanto así que estas bacterias puede llegar a colonizar hasta el 100% de las aves en 72 horas (OIE, 2008). Pero las características de crianza del pollo industrial que es intensiva, alimentados con piensos especiales y el hacinamiento generan acumulación de una gran cantidad de heces fecales Morato (2017), todo conlleva a que los pollos se infecten por campilobacterias termotolerantes rápidamente por coprofagia, además de adquirir otras infecciones por lo que requieran un tratamiento con antibióticos, con relativa frecuencia lograr la sobrevivencia del ave (Morato, 2017; Wikimedia, 2018). En diferencia el pollo de crianza artesanal crecen al aire libre, en semilibertad, reduciendo el nivel de estrés del animal y mejorando la calidad de vida (León, 2011), evitando que estén propensas a infecciones bacterianas.

Respecto a la producción de pollo está basada en normas que eviten que gérmenes patógenos lleguen a los consumidores tanto en el industrial y artesanal, donde aparenta ser más confiable el industrial y concluir que es menos probable el hallazgo de *Campylobacter* sp. como lo evidencia el estudio de Rojas *et al.* (1996), que en diferentes etapas de la producción en una planta avícola de Costa Rica, aislando 73,3% de muestras positivas a *Campylobacter* sp. en pollos después del eviscerado, pero al final de las etapas de producción la bacteria no se detectó (0,0%). Pero Zumbado y Romero (2016), realizaron un estudio también en Costa Rica, en una planta de proceso donde reporta un 61,53% de prevalencia para *Campylobacter* spp. en enjuague de carcasa. Por lo que, al parecer *Campylobacter* resiste todo el proceso en la faena del pollo.

Contrario a las ideas sobre lo confiable y las probabilidades de encontrar *Campylobacter* sp. en carcasas de pollo procedentes de avícolas industriales, el estudio realizado por Rodríguez *et al.* (2016), en Comarca Lagunera de Durango, en México, invierte ésta probabilidad, obteniendo una frecuencia de 89% en carne de pollo congelado y 74% en carne de pollo fresco. Por lo tanto, Rodríguez *et al.* (2016) muestra resultados diferentes a los reportes de éste trabajo, tanto para pollos de avícolas artesanales e industriales. La presencia de *Campylobacter* en pollo congelado está dada por su capacidad de resistir y sobrevivir en temperaturas de refrigeración y congelación (Hernández, 2007), así como en éste estudio el pollo industrial colectado es producto del proceso de congelado y el artesanal del refrigerado.

Por lo tanto, el tipo de crianza que se da al pollo para consumo humano afecta en gran medida a la presencia de *C. jejuni* y *C. coli*. A pesar que las características de la crianza industrial mostrarían una mayor frecuencia de éstas especies de *Campylobacter*, no lo hace, sería debido a la tecnificación en el proceso de obtención de las carcasas en grandes plantas de sacrificio con modernos equipos automatizados (Friedmann y Weil, 2010; Moore *et al.*, 2005). Y la mayor presencia en pollos de origen artesanal por la utilización de un matadero propio (Sanconar, 2014).

Tabla 10. Frecuencia de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especie		<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>			
Diagnóstico		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
Mercado	Procedencia	N	%	N	%	N	%	N	%
Manco Capac	artesanal	2	3,70	-	-	-	-	2	3,70
	industrial	-	-	2	3,70	-	-	2	3,70
Pedro Vilcapaza	artesanal	-	-	2	3,70	1	1,85	1	1,85
	industrial	-	-	4	7,41	-	-	4	7,41
Plaza las Mercedes	artesanal	1	1,85	3	5,56	-	-	4	7,41
	industrial	-	-	8	14,81	-	-	8	14,81
Santa Bárbara	artesanal	3	5,56	6	11,11	1	1,85	8	14,81
	industrial	1	1,85	8	14,81	1	1,85	8	14,81
Túpac Amaru II	artesanal	3	5,56	3	5,56	-	-	6	11,11
	industrial	1	1,85	7	12,96	-	-	8	14,81
Total		11	20,37	43	79,63	3	5,56	51	94,44

En la tabla 10, muestra los resultados obtenidos según la procedencia de carcasas de pollo respecto a los mercados, se tiene que *C. jejuni* presentó mayor frecuencia en los mercados Santa Bárbara con 5,56% y Túpac Amaru II con 5,56% de muestras positivas, ambos en carcasas de procedencia artesanal. La otra especie *C. coli* presentó mayor frecuencia en los mercados Pedro Vilcapaza con 1,85%, Santa Bárbara con 1,85% éstos en carcasas de pollos de procedencia artesanal y también en el mercado Santa Bárbara en carcasas de procedencia industrial se presentó una mayor frecuencia con 1,85% de muestras positivas.

Tabla 11. Prueba de Ji cuadrado (X^2) de la frecuencia de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en carcasas de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Mercados	<i>C. jejuni</i>			<i>C. coli</i>		
	Ji cuadrado	G.L	p	Ji cuadrado	G.L	p
Manco Capac	4,00	1	0,046*	-	-	-
Pedro Vilcapaza	-	-	-	2,4	1	0,121
Plaza las Mercedes	2,18	1	0,140	-	-	-
Santa Bárbara	1,28	1	0,257	0	1	1
Túpac Amaru II	2,36	1	0,124	-	-	-

(*) diferencia significativa

G.L. grados de libertad

p probabilidad de significancia

En la tabla 11, muestra el análisis estadístico mediante la prueba de Ji cuadrado, donde indica para *C. jejuni* la existencia de diferencia estadística significativa en el mercado Manco Capac ($p=0,046$), para el resto de mercados no se determinó una diferencia estadística significativa ($p>0,05$).

En éste estudio, los reportes para *C. jejuni* fueron bajos para muestras positivas para campilobacterias termotolerantes en carcasas de pollo procedentes de avícolas industriales, de acuerdo a los mercados en que se expenden. Contrastando, en una investigación en Nicaragua si se encontraron resultados positivos en carcasas de pollo provenientes de una planta procesadora avícola (industria) por Lamping y Dols (2001), reportando una frecuencia para *C. jejuni* de 3,1% y 1,5% en dos expendios comerciales, también éstos resultados muestran similitud con los reportes de éste estudio en carcasas de pollo procedentes de avícolas artesanales respecto a los mercados donde se expenden.

Por otra parte en Costa Rica, Zumbado *et al.* (2014), evaluó en carcasas de pollo en tres mercados provinciales provenientes de una planta de procesado (industrial), donde se reportó a *C. jejuni* con resultados mayores a las carcasas de pollo de procedencia industrial y también artesanal hallados en éste estudio, así tenemos un 25,0% en San José, un 16,66% en Heredia y un 8,33% en Alajuela. Con respecto a los aislamientos de *C. coli* en carcasas de pollo expendidos en mercados por procedencia de avícolas, encontramos un resultado similar a los hallazgos en el estudio de Zumbado *et al.* (2014), quien reportó en el mercado de San José un 4,2%.

Además de la procedencia de la carne de pollo en expendios de mercados, la presencia de *Campylobacter* está sujeta a otros factores de ámbito socioeconómico y culturales que afectan la seguridad del comercio de la carne de pollo (Lama, 2008). La contaminación cruzada, sucede por conductas de peligro como el lavado de manos, intercambio de guantes, presencia de moscas, uso de tabla de picar sin lavar (Zumbado y Romero, 2016).

Finalmente, los procedimientos de conservación no muestran una eficacia en la mitigación de *C. jejuni* y *C. coli*, en el pollo de procedencia artesanal expendido como pollo fresco el producto es refrigerado (2-4°C) deteniendo el crecimiento de éstas bacterias pero no eliminándolas, a la temperatura de congelación (menos 18°C) éstas bacterias pueden ser recuperadas (Elika, 2013; Hernández, 2007), siendo éste el método utilizado en el pollo de procedencia industrial. Estas características hace que *C. jejuni* y *C. coli* pueden llegar a los consumidores y generar problemas en la salud.

Tabla 12. Frecuencia de especies *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en menudos de pollo (hígados y mollejas) según procedencia de avícolas artesanales e industriales expendidos en la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especie	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>				Total	
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo			
Procedencia	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Artesanal	4	4,94	26	32,10	4	4,94	26	32,10	30	37,04
Industrial	0	0,00	51	62,96	0	0,00	51	62,96	51	62,96
Total	4	4,94	77	95,06	4	4,94	77	95,06	81	100,00

$\chi^2_c = 7.15 > \chi^2_{t(0.05,1)} = 3.84$ Signif. (p=0.007) *C. jejuni*

$\chi^2_c = 7.15 > \chi^2_{t(0.05,1)} = 3.84$ Signif. (p=0.007) *C. coli*

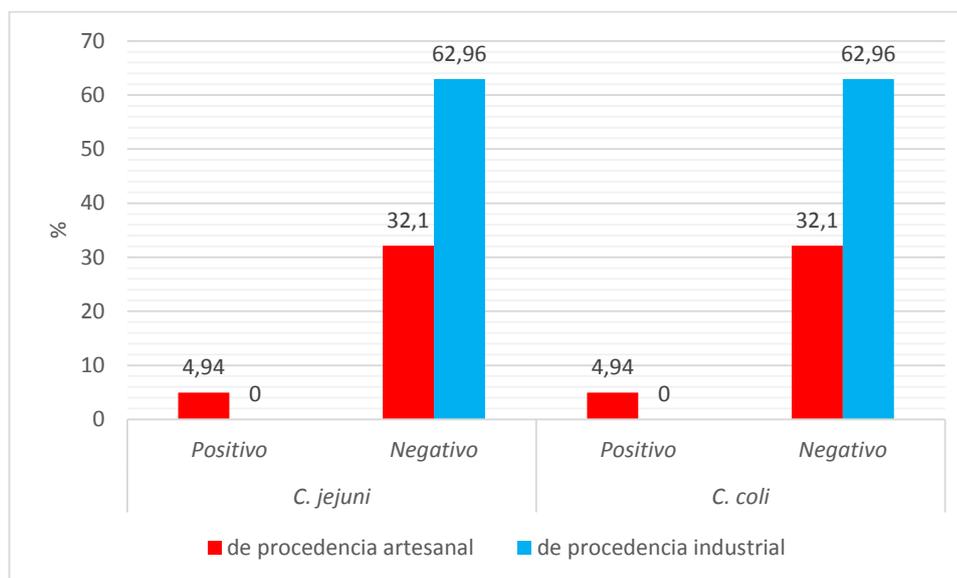


Figura 4. Frecuencia en porcentajes de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en menudos de pollo según procedencia de avícolas artesanales e industriales expendidos en la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

En la tabla 12 y figura 4, muestra los resultados obtenidos según la procedencia de menudos de pollo, se tiene que *C. jejuni* presentó mayor frecuencia en pollos de procedencia artesanal con 4,94% de muestras positivas, *C. coli* también presentó mayor

frecuencia en pollos de dicha procedencia con 4,94%. El análisis estadístico mediante la prueba de Ji cuadrado indica para *C. jejuni* la existencia de diferencia estadística significativa ($p=0,007$), señalando que su presencia es mayor en menudos de pollo de origen artesanal, para *C. coli* también existió diferencia estadística ($p=0,007$) con mayor presencia en menudos de pollos de origen artesanal.

Con respecto a la frecuencia de *C. jejuni*, en Argentina el estudio realizado Giacoboni *et al.* (1999), reportó en menudos de pollo procedente de diferentes granjas (artesanal) (35%) una frecuencia mayor a lo presentado en éste estudio. De similar manera los reportes en hígados de pollo (menudo) procedentes de plantas avícolas de procesado (industrial) presentan resultados mayores respecto a éste estudio, Valentini *et al.* (2015) también en Argentina reportó una frecuencia de 12,0% para *C. jejuni* y Alagic *et al.* (2016) encontró en Bosnia Herzegovina una frecuencia de 9,5% para *C. jejuni*.

Con respecto a la frecuencia de *C. coli*, el estudio de Giacoboni *et al.* (1999), reportó una frecuencia similar en menudos de pollo procedente de diferentes granjas (artesanal) para *C. coli* (0,8%) respecto a éste estudio. No obstante, Jordán (2014) refirió un valor mayor para *C. coli* (20,6%) en vísceras de gallina (hígado e intestino) procedente de un matadero en La Habana (rastros artesanal).

Por lo tanto, los menudos de pollo que están más propensos a contaminarse por campilobacterias termotolerantes son el hígado y molleja. Su cercanía al ciego (intestino), las hace candidatas para adquirir éstas bacterias. Ya que, *Campylobacter* reside y se multiplica en el ciego de las aves como lo refiere la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2008), por lo que en el proceso de faenado del pollo, el proceso de la evisceración genera contaminación cruzada (Klotz *et al.*, 2013).

Tabla 13. Frecuencia de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en menudos de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Especies		<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>			
Diagnóstico		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
Mercado	Procedencia	N	%	N	%	N	%	N	%
Manco Capac	artesanal	1	1,23	3	3,70	1	1,23	3	3,70
	industrial	-	-	6	7,41	-	-	6	7,41
Pedro Vilcapaza	artesanal	-	-	4	4,94	1	1,23	3	3,70
	industrial	-	-	7	8,64	-	-	7	8,64
Plaza las Mercedes	artesanal	2	2,47	2	2,47	-	-	4	4,94
	industrial	-	-	12	14,81	-	-	12	14,81
Santa Bárbara	artesanal	-	-	10	12,35	2	2,47	8	9,88
	industrial	-	-	12	14,81	-	-	12	14,81
Túpac Amaru II	artesanal	1	1,23	7	8,64	-	-	8	9,88
	industrial	-	-	14	17,28	-	-	14	17,28
Total		4	4,94	77	95,06	4	4,94	77	95,06

En la tabla 13, muestra los resultados obtenidos según la procedencia de menudos de pollo respecto a los mercados, se tiene que *C. jejuni* presentó mayor frecuencia en el mercado Plaza las Mercedes en menudos de procedencia artesanal con 2,47% de muestras positivas, *C. coli* presento mayor frecuencia en el mercado Santa Bárbara con 2,47% de muestras positivas en menudos de pollos de procedencia artesanal.

Tabla 14. Prueba de Ji cuadrado (X^2) de la frecuencia de especies de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en menudos de pollo según mercados de expendio y procedencia de avícolas artesanales e industriales de la ciudad de Juliaca, octubre 2016 – enero 2017

Mercados	<i>C. jejuni</i>			<i>C. coli</i>		
	Ji cuadrado	G.L.	p	Ji cuadrado	G.L.	p
Manco Capac	1,67	1	0,197	1,67	1	0,197
Pedro Vilcapaza	-	-	-	1,92	1	0,165
Plaza las Mercedes	6,85	1	0,009*	-	-	-
Santa Bárbara	-	-	-	2,64	1	0,104
Túpac Amaru II	1,83	1	0,176	-	-	-

(*) diferencia significativa

G.L. grados de libertad

p probabilidad de significancia

En la tabla 14, muestra el análisis estadístico mediante la prueba de Ji cuadrado, indicando para *C. jejuni* la existencia de diferencia estadística significativa en el mercado Plaza las Mercedes ($p=0,009$), para el resto de mercados no se determinó la existencia de una diferencia estadística significativa ($p>0,05$).

Está claro que en los mercados de éste estudio las especies de *Campylobacter*, son más frecuentes en menudos de pollos de avícolas artesanales y respecto a avícolas industriales donde no se encontró resultados positivos. Como también se mostró en el estudio realizado en un rastro artesanal por Calderón (2006), en vísceras de pollo (hígados) refirió un resultado de 40,0% para especies de *Campylobacter*, siendo mayor a un 9,5% presentado por Alagic *et al.* (2016), en hígados de pollo de los mataderos más modernos de Bosnia Herzegovina.

En ésta investigación se observó que la presentación de los menudos en expendio es diferente de acuerdo a la procedencia de la carne de pollo. En los que proceden de avícolas artesanales, los menudos no han sido separados del cuerpo del pollo y son retirados en el momento de la venta, a diferencia de los menudos provenientes de avícolas industriales que se expenden por separado. Es así que los menudos de pollo procedentes de avícolas artesanales están más expuesto en el expendio a actividades de alta manipulación, generando contaminación cruzada por campilobacterias (Klotz *et al.*, 2013). Éstas diferencias respaldan los hallazgos de ésta investigación, en donde no se encontró *C. jejuni* y *C. coli* en menudos de pollo procedentes de avícolas industriales.

Finalmente, las características de la venta de los menudos hacen que los de procedencia artesanal estén más expuestos a contaminarse en el expendio que los de procedencia industrial.

V. CONCLUSIONES

- En carcasas de pollo que se expenden en los mercados de la ciudad de Juliaca, se encontraron bacterias termotolerantes del género *Campylobacter* (27,78%; 15/54), identificándose tres especies termotolerantes: *C. jejuni* (20,37%; 11/15), *C. coli* (5,56; 3/15) y *C. lari* (1,85%; 1/15), donde *C. jejuni* presentó más casos de positividad que *C. coli* y *C. lari* ($p=0,002$).
- En menudos de pollo (hígado y molleja) que se expenden en los mercados de la ciudad de Juliaca, se encontró bacterias termotolerantes del género *Campylobacter* (11,11%; 9/81), identificándose tres especies termotolerantes: *C. jejuni* (4,94%; 4/81), *C. coli* (4,94; 4/81) y *C. lari* (1,23%; 1/81), donde las tres especies muestran similitud de casos ($p=0,354$).
- La especie *C. jejuni*, es más frecuente en carcasas procedentes de avícolas artesanales (16,67%; 9/23) que en carcasas procedentes de avícolas industriales (3,70%; 2/31) ($p=0,003$) y *C. coli* no presenta diferencias significativas en carcasas procedentes de avícolas artesanales (3,70%; 2/23) con respecto a carcasas procedentes de avícolas industriales (1,85%; 1/31) ($p=0,386$), además la especie *C. jejuni* es más frecuente en menudos procedentes de avícolas artesanales (4,94%; 4/30) que en menudos procedentes de avícolas industriales ($p=0,007$), donde la especie no se encontró y *C. coli* es más frecuente en menudos procedentes de avícolas artesanales (4,94%; 4/30) con respecto a los procedentes de avícolas industriales ($p=0,007$), donde la especie no se encontró.

VI. RECOMENDACIONES

- Para un mejor aislamiento de *Campylobacter* spp. utilizar un medio selectivo específico, como el Agar Skirrow con sangre de cordero, su preparación original es con sangre de caballo, aun así brinda los resultados esperados. Para mejorar el aislamiento de *Campylobacter* spp. adecuar en la incubación una temperatura de 42°C que faculta a las campilobacterias termotolerantes en crecer óptimamente e inhibe el crecimiento de otros gérmenes.
- También la utilización del método para generar una atmosfera adecuada de jarra con vela y optimizar el crecimiento de *Campylobacter*, a pesar que hay generadores de gases específicos en el comercio y son mejores para generar la microaerofilia adecuada para la bacteria, la técnica de jarra con vela en conjunción con un medio selectivo muestra un óptimo rendimiento.
- Para la identificación de especies, continuar con las investigaciones con un número mayor de pruebas bioquímicas en microbiología tradicional y también otras pruebas de identificación, como marcadores serológicos específicos de especies de *Campylobacter*.
- Se recomienda realizar trabajos comparativos de resistencia antibiótica de *Campylobacter* spp. provenientes de muestras de pollo de expendio y también de casos clínicos de Campilobacteriosis.

VII. BIBLIOGRAFIA

Acha, P. N. & Szyfres, B. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 3ª Ed. Vol. 1. Washington DC, EUA: Organización Panamericana de la Salud, OMS; 2001. pp. 57-61.

AESAN. Informe del comité científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición con relación a las medidas de control para reducir la presencia de *Campylobacter spp.* en carne fresca de aves (pollo). España: Rev. Del Comité Científico nº 16. AESAN; 2012. pp. 21-55,

Alagić, D.; Smajlović, A.; Smajlović, M.; Maksimović, Z.; Članjak, E.; Čaklović, K.; Tanković, S.; Veljović, E.; Ljevaković-Musladin, I. & Rifatbegović, M. Učestalost onečišćenja mesa brojlera s bakterijama roda *Campylobacter*. Bona i Hercegovina. Znanstveno stručni dio. MESO. No. 4. July – August. Vol. XVIII (2016). Pp. 335-341

Altekruse, S. F.; Stern, M. J.; Fields, P. I. & Swerdlow, D. L. *Campylobacter jejuni*, un patógeno emergente transmitido por los alimentos. Vol. 5, Nº. 1. U.S.A.; Enero-Febrero, 1999. pp. 28-35.

Amábile C., C. F. Diccionario de Infectología y Microbiología Clínica. Fundación LUSARA para la Investigación Científica. México. 2008.

Antillon, F.; Odio, E. & García, V. Presencia de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *C. laridis* en pollos frescos del área metropolitana de San José, Costa Rica. Rev. Cost. Med. 1991; 8(1): 39-41.

Ausina R., V. & Moreno G., S. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana, S. A., Madrid, España. 2006. pp. 393-394.

Brooks, G. F.; Morse, S. A.; Meitzner, T. A.; Carroll, K. C. & Butel, J. S. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. 25ª Ed. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. 2011. pp. 238-240.

Calderón S., E. M. determinación de *Campylobacter* sp en la carne, vísceras y heces, de pollos de engorde en un rastro artesanal en la ciudad capital de Guatemala. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Guatemala: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad San Carlos de Guatemala; 2006.

Carmona V., F. Presencia de *Campylobacter jejuni* en aves de corral y sus manipuladores. Cali - Colombia: BIOMEDICA, Vol. 5, Nos. 3 y 4, 1985. Pp. 78-85.

Cervantes G., E. & Cravioto Q., A. *Campylobacter* y Enfermedades Asociadas. México: Rev. Fac. Med. UNAM, Vol. 50 No 1; 2007: 31-35

COECO. Pollos camperos vs convencionales. Buenos Aires market (internet). Junio del 2013. (acceso 20 de diciembre del 2017). Disponible en: <http://www.buenosairesmarket.com/pollos-de-campo-vs-convencionales/>

ELIKA. *Campylobacter jejuni* en carne de aves. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Arkaute (Araba). 2006.

ELIKA. *Campylobacter*. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Arkaute (Araba). 2013.

Farace, M. I. y Viñas, M. R. Manual de Prodecimiento para el Aislamiento y Caracterización de *Campylobacter* spp. ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”. Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv. Argentina. 2007

Fernández, H. *Campylobacter* y Campilobacteriosis: Una mirada desde América del Sur. Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública. 2011; 28(1):121-127.

Figuroa E., A. Presencia de *Campylobacter jejuni* en carne de ave congelada en una planta procesadora de la región metropolitana. Memoria para optar el título profesional de Médico Veterinario. Santiago – Chile: Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile; 2006.

Friedmann, A. y Weil, B. Producción avícola: negocio en crecimiento. USA: Agencia del Gobierno de los EE.UU. para el Desarrollo Internacional (USAID), Unidad de Comunicaciones del programa Paraguay Vende; Junio, 2010.

García, F.J.; Abad, J.C.; Serrano, T.; Frías, N.; Castro, M. y Lorente, S. Epidemiología de *Campylobacter* en avicultura. Congreso Científico de Avicultura, Simposio WPSA-AECA. Lleida, España. 2013.

Garrity, G. M.; Bell, J. A. & Lilburn, T. G. Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2ª Ed. USA: Editorial Office Bergey's Manual Trust. May 2004.

Giacoboni, G.; Puchuri, M. C. & Cerda, R. *Campylobacter* termotolerantes en menudos y cascara de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de La Plata (Argentina). *Analecta Veterinaria*, 1999; 19, ½: 51-54.

Giacoboni, G.; López, C.; Tellechea, D. & Agostini, A. *Campylobacter jejuni* en una granja de pollos camperos. Localidad de Pilar, Buenos Aires - Argentina. *Analecta Veterinaria*, 2002; 22, 2: 42-47.

Guerra J., L. R. Determinación de la presencia de *Campylobacter* sp. en carne de pollo faenado de forma artesanal, comercializado en los mercados municipales del Municipio de Mixco, Guatemala. Trabajo de Graduación al conferírsele el título profesional de Médica Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala; 2017

Hermans, D.; Deun, K. V.; Martel, A; Immerseel, F. V.; Messens, W.; Heyndrickx, M.; Haesebrouck, F. & Pasmans, F. Factores de colonización de *Campylobacter jejuni* en el intestino del pollo. *Investigación Veterinaria* 2011. Pp. 42-82

Hernández H., J. *Campylobacter*: líder en patología intestinal infecciosa. Valencia, España. 2007.

IGP. Juliaca. Instituto Geofísico del Perú. 1995 (acceso 01 de julio del 2016). Disponible en: <http://www.met.igp.gop.pe/clima/HTML/juliaca.html>

Jiménez M., M. Inspección veterinaria de la carne de pollo para consumo humano en diferentes puntos de la cadena de producción. Trabajo final de graduación para optar el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria. Escuela de Medicina

Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional. Costa Rica, 2016

Jordán A., C. R. Determinación de *Campylobacter* spp. en vísceras (hígado e intestino) de gallinas en un matadero de La Habana. Tesis en opción al Título en Licenciado en Ciencias Alimentarias. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana; 2014.

Klotz C., B.; Mantilla P., J.M.; Ramírez R., R.; Romero P., J.; Garcés V., F. Perfil de riesgo: *Campylobacter* spp. en pollos de engorde. Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Salud (INS), Ministerio de Salud y Protección Social (MinSalud). Imprenta Nacional. 2013.

Koneman, E. W.; Winn, W. C.; Procop, G. W.; Allen, S. D.; Schreckenberger, P. C.; Janda, W. M. & Woods, G. L. Koneman Diagnostico Microbiológico: Texto y Atlas en Color. 6ª Ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana, S. A. 2006. pp. 372-382.

Lama F., P. Campilobacteriosis y su importancia en los alimentos. Armoll Consulting (Internet). Abril de 2008. (acceso 02 de diciembre del 2015). Disponible en: <http://mundialimentos.blogspot.pe/2008/04/campilobacteriosis-y-su-importancia-en.html>

Lamping L., M. & Dolz, G. Evaluación de la contaminación de carne de pollo con *Campylobacter jejuni* en puntos críticos de control de riesgo, utilizando el método de cultivo convencional. Nicaragua: La Calera-UNA, 2001. Pp. 42-44.

Lapierre A., L. Factores de virulencia asociados a especies zoonoticas de *Campylobacter* spp. La Pintada, Santiago de Chile: Avances en Ciencias Veterinarias 2013; V28, N° 1: 25-31.

León, A. Granja Luisiana, ejemplo de producción avícola `artesana`, como hace 50 años. Interempresas (internet). Febrero del 2011. (acceso 11 de febrero del 2018). Disponible en: <https://www.interempresas.ra/Granjero/Articulos-4854/Granja-Luisiana-ejemplo-de-produccion-avicola-artesana-como-hace-50-años.html>

López R., E. Frecuencia de *Campylobacter* spp. en muestras de heces de humanos y carnes de pollo, puerco y res en tres núcleos poblacionales de la ciudad de San Luis Potosí. Tesis para optar el grado de Maestra en Salud Publica. México: Facultad de Enfermería de la Universidad Autónoma San Luis Potosí; 2004.

López, C.; Agostini, A.; Giacoboni, G.; Cornero, F.; Tellechea, D. & Trinidad, J. J. Campilobacteriosis en una comunidad de bajos recursos de Buenos Aires, Argentina. Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz.; 2003, 22(3):1013-1020.

Lozano C., T. J. Presencia de *Campylobacter* termotolerante en carne cruda de pollo que se expende en mercados de Iquitos. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo. Perú: Facultad de Ciencia Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2016.

Lucas L., J.; Vilca L., M. & Ramos D., D. Presencia de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. Rev. Investig. Vet. Perú vol. 24 n°3; 2013.

MacFaddin. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3ª Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana S. A. 2003.

Mandell, G. L.; Bennett, J. E. & Dolin, R. Enfermedades Infecciosas, Principios y Practica. 7ª Ed. Barcelona: Elsevier España, S. L. 2012.

Mardones p., g. & López M., J. Implicancias de *Campylobacter* spp. como patógeno alimentario. Chile: Chilean J. Agric. Anim. Sci, ex Agro- Ciencia (2017), 33(1): 73-83.

MINAG. Sector Avícola. Cercado de Lima, Perú: Ministerio de agricultura (MINAG), Oficina de estudios económicos y estadísticos – OEEE. Junio, 2010

Moore, J. E. *Campylobacter*. UK. Vet. Res. 36 (INRA, EDP Scienses; 2005): 351-382.

Morato, A. G. ¿Cuál es la diferencia entre pollo de corral y el de granja industrial?.Cocinillas (internet). Junio del 2017. (acceso 07 de enero del 2018). Disponible en: <https://cocinillas.lespanol.com/2017/06/diferencia-entre-el-pollo-de-corral-y-el-industrial/>

Moreno Y., M. Estudio de la presencia de *Campylobacter* spp. en carcasas de pollo frescos provenientes de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto” de la ciudad de Cuenca – Ecuador. Tesis previa a la obtención del título de Master en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria. Ecuador: Departamento de Posgrados de la Universidad de Azuay; 2015.

MOSBY. Diccionario Mosby de Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud, 6ª Ed. Elsevier, España. 2003.

Murray, P. R.; Rosenthal, K. S. & Pfaller, M. A. Microbiología Médica. Barcelona: Elsevier España, S. L. 2009. pp. 325-328.

NTP (Norma Técnica Peruana 201.054:2001). Carne y productos cárnicos. Aves para consumo. Definiciones, requisitos y clasificación de las carcasas y carne de pollos, gallinas, gallos, pavos, patos y gansos. 2da edición. Lima-Perú: INDECOPI-CNB, 2001.

NTP (Norma Técnica Peruana 201.054:2009). Carne y productos cárnicos. Ave para consumo. Definiciones y requisitos de las carcasas y nomenclaturas de cortes. 2da edición. Lima-Perú: INDECOPI-CNB, 2009.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Manual sobre animales terrestres: *Campylobacter Jejuni* y *Campylobacter coli*. París, Francia: Office International Des Epizooties. 2008.

Orihuel I., E.; Sanz J., M.; Berto N., R.; Canet G., J. J.; Lorenzo C., F.; Corujo F., A. & Milvaques C., A. *Campylobacter*, la bacteria discreta. Valencia – España. Betelgeux, S.L., 2015. PP. 1-48.

Pascual A., R. Enfermedades de Origen Alimentario: Su Prevención. España: Ediciones Díaz de Santos, S. A. 2005.

Rodríguez C., R.; Gómez H., F.; & Vásquez S., H. Presencia de *Campylobacter* y *Salmonella*, en pollo a la venta en Gómez Palacio Durango, México. REDVET. Rev. Electron. Volumen 17, N° 6, 2016. Pp. 1-7

Rojas, N.; Chaves, E. & García, F. Bacteriología Diagnostica. Costa Rica: Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. 2006.

Rojas, X.; Rojas, Y.; Soto, L.; Delgado, D. & Hernández, F. *Campylobacter* sp. en pollos para consumo humano. Costa Rica: Rev. Cost. De Ciencias Médicas. Vol. 17. N° 1; Marzo, 1996: 34-39

Sanchonar, S. R. producción de pollos camperos y capones. Avicultura.com (internet). Marzo del 2014. (acceso 18 de enero del 2018). Disponible en: <http://www.avicultura.com/2014/03/28/produccion-de-pollos-camperos-y-capones/>

Scotiabank. Consumo impulsa a la avicultura. El Peruano, Diario oficial (internet). Noviembre del 2016. (acceso 03 de abril del 2018). Disponible en: <http://www.elperuano.com.pe/noticia-consumo-impulsa-a-avicultura-48149.aspx>

Spicer, W. J. Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas: Texto Atlas a Color. 2ª Ed. Barcelona: Elsevier España, S. L. 2009. pp. 50-51.

Torres R., M. F. Manual Práctico de Bacteriología Médica. Guatemala: Editorial Serviprensa C.A. 1996. pp. 71-74.

Trachoo, N. *Campylobacter jejuni*: Un patógeno emergente. Mahasarakham – Tailandia. Songklanakarin J. Sci. Tec, 2003; 25(1): 141-157.

Valentini, E. M.; Espejo, C.; Martincic, D. G.; Fernández, M.; Nevilly, R. D.; Gracia, M.V. & Mariotti, G. Salud pública en riesgo: Campilobacteriosis. Mendoza – Argentina: SENASA; sns N° 8, Abril – Junio de 2015. Pp. 27-31.

Velasco R., V. M; Martínez O., V. A.; Roiz H., J.; Huazano G., F. & Nieves R., A. Muestreo y Tamaño de muestra: Una guía práctica para personal de salud que realiza investigación. México: e-libro.net. 2002. pp. 39-44.

Vera V., J. El sector avícola peruano: clave en el desarrollo del país. El sitio Avícola (internet). Septiembre del 2016. (acceso 02 de enero del 2018). Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2920/el-sector-avicola-peruano-clave-en-el-desarrollo-del-paas/>

Vliet, A.H.M. & Ketley, J. M. Patogénesis de la infección entérica por *Campylobacter*. Leicester, Reino Unido: Journal of Applied Microbiology. 2001, 90: 45S-56S.

Wikimedia. Granja avícola. Wikipedia, la enciclopedia de contenido libre (internet). Marzo del 2018. (acceso 03 de abril del 2018). Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Granja_av%C3%ADcola

Zumbado G., L.; Arévalo M., A.; Donado G., M. del P. & Romero Z., J. J. Diagnóstico molecular de *Campylobacter* en la cadena avícola destinada para consumo humano en Costa Rica. Agron. Mesoam. 2014; 25(2): 357-363.

Zumbado G., L. & Romero Z., J. J. Factores asociados a la contaminación con *Campylobacter* spp. termotolerante en pollos de engorde, en tres niveles de la cadena avícola, para consumo humano en Costa Rica. Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 34, N° 2, (81-94), ISSN: 2215-4507, julio-diciembre, 2016.

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de la ubicación de los mercados de abastos en la ciudad de Juliaca.



Figura 5. Ubicación de los mercados Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Manco Capac, Pedro Vilcapaza y Plaza Las Mercedes de la ciudad de Juliaca, 2016.

Anexo 2. Fotos tomadas a los mercados de la ciudad de Juliaca: Santa Bárbara, Túpac Amaru II, Pedro Vilcapaza, Manco Capac y Plaza las Mercedes.



Figura 6. Puestos de expendio del mercado Santa Bárbara (Setiembre, 2016).



Figura 7. Puestos de expendio del mercado Túpac Amaru II (Setiembre, 2016).



Figura 8. Puestos de expendio del mercado Pedro Vilcapaza (Setiembre, 2016).



Figura 9. Puestos de expendio del mercado Manco Capac (Setiembre, 2016).



Figura 10. Puestos de expendio del mercado Plaza Las Mercedes (setiembre, 2016).

Anexo 3. Formato para toma y evaluación de muestras de carcasa y menudos de pollo.

MUESTRA DE POLLO:	CARCASA ()	MENUDO ()
Nº de muestra:	
Lugar de toma de muestra:	
Fecha:	
Hora:	
Temperatura ambiente:	
 RESULTADOS:		
Cultivo:		
Crecimiento en agar Skirrow: positivo (), Negativo ()		
Evaluación de características culturales:		
Forma:	
Color:	
Borde:	
Apariencia:	
Hemolisis:	
 Pruebas para su identificación:		
Prueba	Positivo/ sensible	Negativo/ resistente
Coloración de Gram		
Catalasa		
Oxidasa		
Hidrólisis del hipurato		
Reducción de nitratos		
Sensibilidad al ácido nalidixico		
Sensibilidad a la cefalotina		
 Características microscópicas de las bacterias Gram negativas:		
Forma:	
Especie identificada:	

Anexo 4. Medios de cultivo usados para el aislamiento de *Campylobacter* sp.

a. Agar Skirrow (modificado) o agar sangre de Skirrow modificado.

Campylobacter Supplement – III (Skirrow) (HIMEDIA).

01 vial para 500 ml de agua destilada.

Contenido del vial:

- Vancomycin 5 mg
- Polymyxin B sulphate 1250 IU
- Trimethoprim 2500 mg

Agar Brucella Bacto (Difco Labs.).

45 gr para 1000 ml de agua destilada.

Contenido del agar Brucella:

- Peptona 20 gr
- Dextrosa 1 gr
- Levadura extracto 2 gr
- Cloruro sódico 5 gr
- Bisulfito sódico 0,1 gr
- Agar 15 gr

Sangre de cordero desfibrinada estéril (modificación).

Se usa entre 5-7% para la cantidad a preparar.

La preparación original del Agar Skirrow se realiza con sangre de caballo desfibrinada y estéril.

b. Agua peptonada 0,1%.

Peptone (Buffered Peptone Water. Merck).

- Peptona 1 gr
- Agua destilada 1000 ml

c. Caldo Mueller-Hinton (Merck).

21 gr para 1000 ml de agua destilada.

Contenido:

- Hidrolizado de caseína 17,5 gr
- Infusión de carne 2 gr
- Almidón soluble 1,5 gr

d. Agar Mueller-Hinton (Merck).

34 gr para 1000 ml de agua destilada.

Contenido:

- Hidrolizado de caseína 17,5 gr
- Infusión de carne 2 gr
- Almidón soluble 1,5 gr
- Agar bacteriológico 17 gr

e. Caldo nitrado.

Caldo nutritivo (Laboratorios Britania S.A.).

8 gr para 1000 ml de agua destilada.

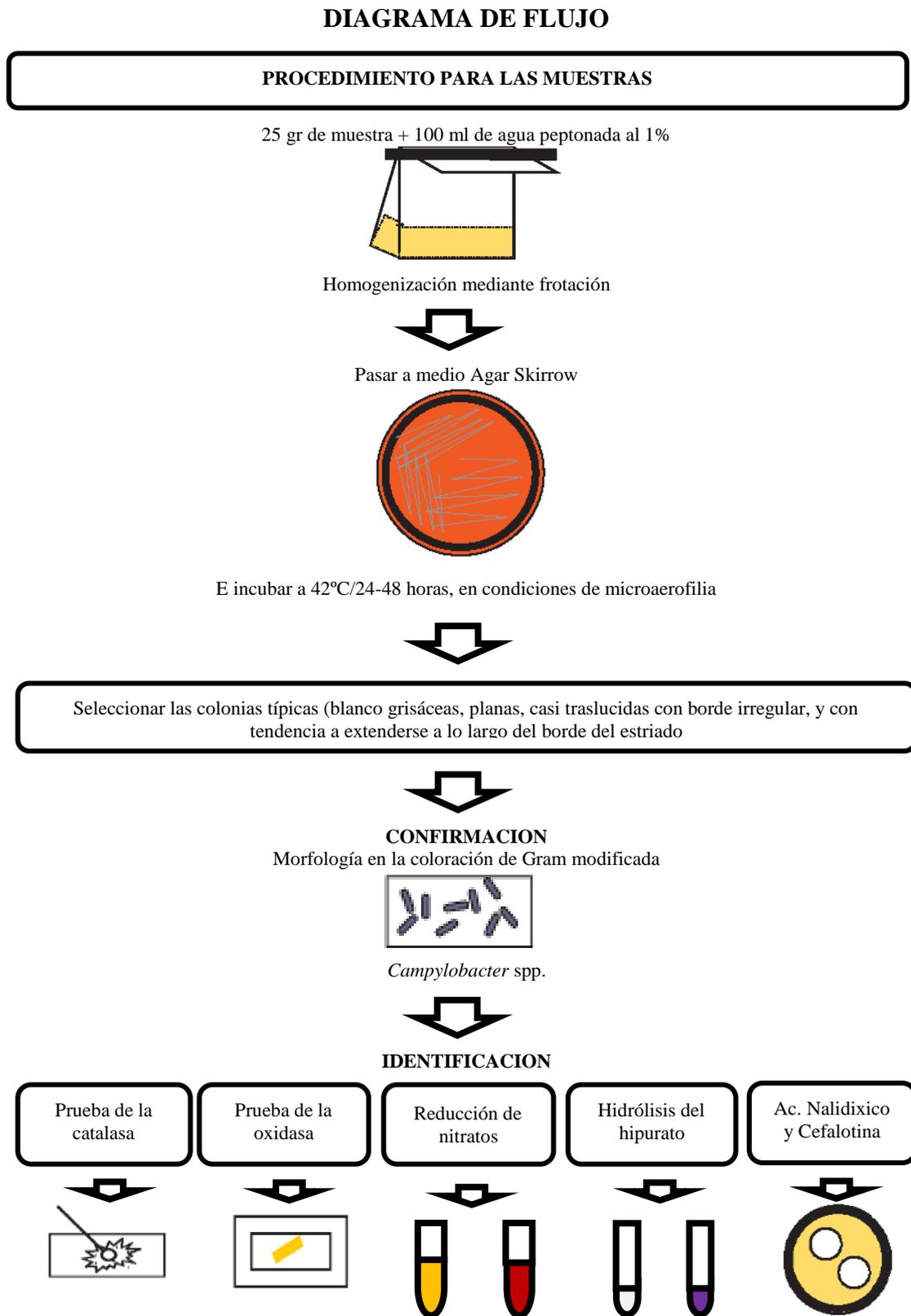
Contenido:

- Extracto de carne 3 gr
- Pluripeptona 5 gr

Nitrato de potasio.

1 gr para 1000 ml de Caldo nutritivo.

Anexo 5. Diagrama de flujo para el aislamiento e identificación de especies de *Campylobacter*.



Anexo 6. Figuras tomadas en el procesado de muestras.

Figura 11. Muestras de carcasas de pollo en bolsas de plástico estériles con agua peptonada 0,1%. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).



Figura 12. Placas de agar Skirrow en jarra de anaerobiosis, siendo incubadas a 42°C. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).



Figura 13. Crecimiento de colonias en medio agar Skirrow. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).



Figura 14. Microscopia de las láminas coloreadas con tinción de Gram modificada. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).



Figura 15. Reacción positiva a la prueba de catalasa, obsérvese desprendimiento de burbujas. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).

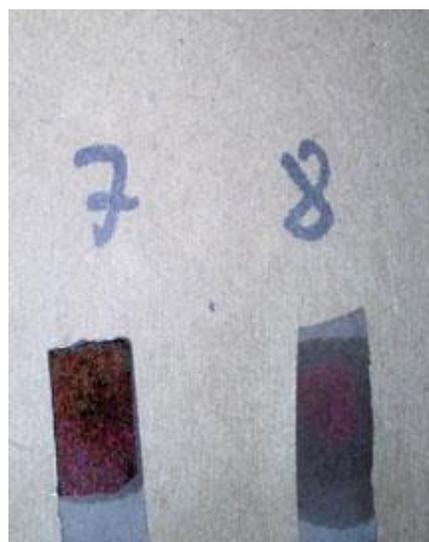


Figura 16. Reacción positiva a la prueba de oxidasa. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).

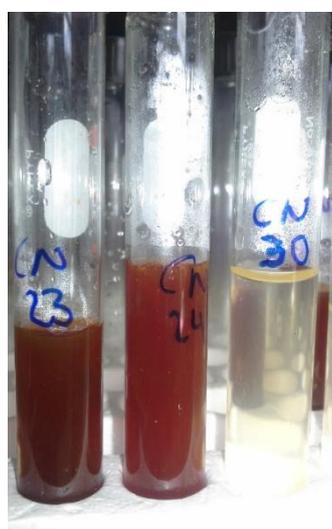


Figura 17. Reacción positiva a la prueba de reducción de nitratos, obsérvese el color rojo (izquierda) y la reacción negativa sin cambio de color (derecha). Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).



Figura 18. Reacción positiva a la prueba de hidrólisis del hipurato (izquierda) y reacción negativa (derecha). Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).

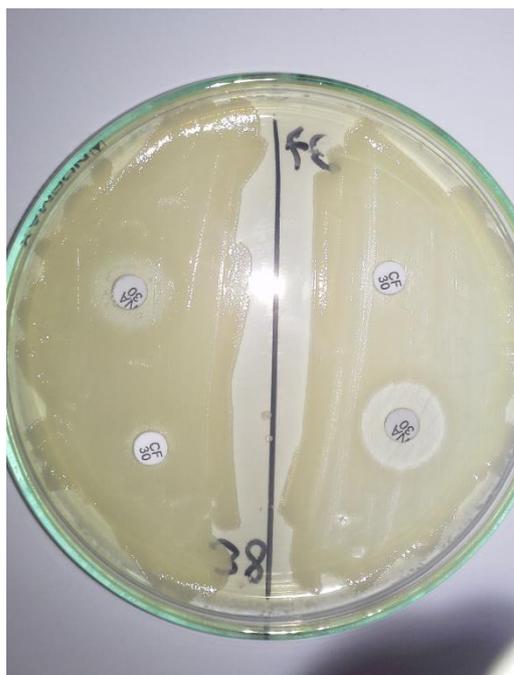


Figura 19. Izquierda y derecha: Prueba de susceptibilidad antibiótica con discos de ácido nalidixico (sensible) y cefalotina (resistente) en agar Mueller Hinton, característico de *Campylobacter jejuni* y *C. coli*. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).

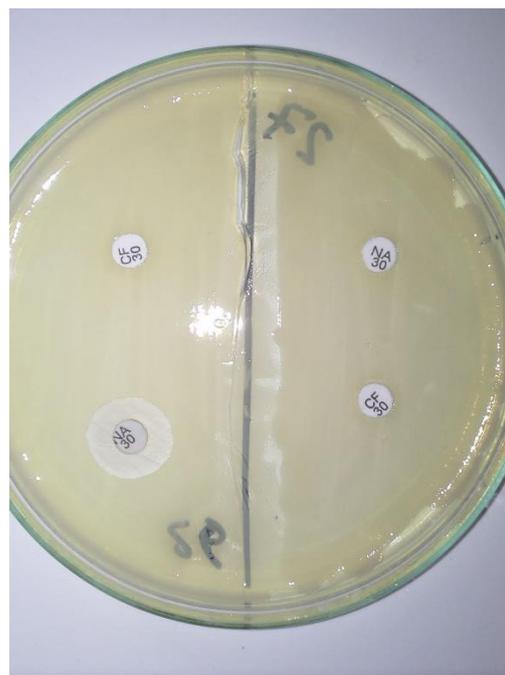


Figura 20. Derecha: Prueba de susceptibilidad antibiótica con discos de ácido nalidixico (resistente) y cefalotina (resistente) en agar Mueller Hinton, característico de *Campylobacter lari*. Laboratorio de Microbiología FCCBB UNA-PUNO (octubre 2016 – enero 2017).

CONSTANCIA N°; N°001.

LA QUE SUSCRIBE: COORDINADORA DEL PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO:

Hace constar que el señor (rita) : ALAN FIGUEROA MAMANI ha realizado su trabajo de investigación denominado “ Frecuencia de Campylobacterias termotolerantes en carcasas de menudo de pollo, provenientes de los mercados de Juliaca” en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas ,según solicitud y autorización de fecha 15 de Julio del 2016 ,así consta en el libro de asistencia de tesis y el informe del señor Técnico de laboratorio Leonidas Teves Alejo. Se emite la presente, para fines de trámite documentario solicitado por la Coordinación de investigación de la FCCBB.

C.U 18 de junio del 2018.


VICTORIA GONZALES ALCOS
Coordinadora del programa de
Microbiología y Laboratorio Clínico.

