



DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE *Campylobacter* sp. EN UNA PLANTA AVÍCOLA
UBICADA EN EL DEPARTAMENTO DEL META

LUISA FERNANDA ERAZO DELGADO

TRABAJO DE GRADO Presentado como requisito parcial para optar al título de MICROBIÓLOGO
INDUSTRIAL

DIRECTOR

Deyci Rocío Rodríguez Cordero

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL BOGOTÁ, D.C.

Julio, 2018



DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE *Campylobacter* sp. EN UNA PLANTA AVÍCOLA
UBICADA EN EL DEPARTAMENTO DEL META

APROBADO

Concepción Judith Puerta Bula

Decana Académica

Facultad de Ciencias

Marcela Franco Correa

Directora de Carrera

Facultad de Ciencias



DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE *Campylobacter* sp. EN UNA PLANTA AVÍCOLA
UBICADA EN EL DEPARTAMENTO DEL META

APROBADO

Deyci Rocío Rodríguez Cordero

Directora

Ana Karina Carrascal Camacho

Jurado

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia.”

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

Agradecimientos

Durante la realización de este proyecto de grado debo agradecer a la profesora Deyci Rodríguez por su apoyo incondicional, sus comentarios, correcciones y sugerencias. También agradezco a Texas Tech, 3M y Avima S.A quienes financiaron el proyecto, y la colaboración en la toma de muestras y finalmente a mis padres por estar conmigo durante toda la trayectoria de la carrera.

Tabla de contenido

Agradecimientos	5
Resumen.....	8
1. Introducción	9
2. Justificación y planteamiento del problema	10
3. Marco teórico	11
3.1. Descripción microbiológica de <i>Campylobacter</i> sp.	11
3.2. Epidemiología	11
3.3. Etapas de beneficio	12
3.3.1. Ayuno	12
3.3.2. Captura.....	12
3.3.3. Recepción	12
3.3.4. Aturdimiento	12
3.3.5. Degüello	12
3.3.6. Desangrado.....	13
3.3.7. Escaldado	13
3.3.8. Desplumado.....	13
3.3.9. Evisceración.....	14
3.3.10. Pre-chiller	14
3.3.11. Chiller	15
3.3.12. Empaque.....	15
3.4. Método de ensayo de detección molecular 3M (MDS)	15
3.5. Método bioquímico API	15
4. Objetivos	16
4.1. Objetivos generales	16
4.2. Objetivos específicos	16
5. Metodología	17
6. Resultados y discusión	19
7. Conclusiones	24
8. Referencias	25

Tabla de imágenes

Imagen 1. Etapa de desangrado	11
Imagen 2. Etapa de escaldado	12
Imagen 3. Etapa de evisceración	12
Imagen 4. Etapa de Pre-chiller.....	13

Resumen.

Campylobacter sp. es un microorganismo causante de infecciones zoonóticas en el mundo, ocasionando en el humano gastroenteritis agudas con diarrea, fiebre, dolor abdominal. *Campylobacter* sp. está asociado al tracto gastrointestinal de las aves de corral, lo que genera que la carne de aves de corral sea el principal vehículo de *Campylobacter* sp. para llegar al humano. En este ensayo se determinó la prevalencia de *Campylobacter* sp. en las diferentes etapas del proceso de beneficio por medio de métodos moleculares y recuento en placa simultáneamente, a su vez se confirmaron las muestras con la prueba de movilidad. Se obtuvieron porcentajes de prevalencia por encima de 50% en etapas posteriores a la evisceración (post-intervención), lo que llevo a implementar acciones de mejora logrando disminuir estos porcentajes hasta 0% en etapas como pre-chiller y chiller, concluyendo que las acciones de mejora propuestas lograron ser efectivas para disminuir la prevalencia de *Campylobacter* sp. Además, este proyecto es el primero en investigar la prevalencia de *Campylobacter* sp. en la región, permitiendo la implementación de prácticas para mitigar la prevalencia y disminuir las infecciones por dicho microorganismo en los humanos.

1. Introducción.

Campylobacter sp. es uno de los microorganismos que causa infecciones zoonóticas en el mundo, aproximadamente en Estados Unidos 1 millón de personas es infectada, mientras que en Europa son 9 millones de personas, de acuerdo con el Instituto Nacional de la Salud (INS) en el año 2009 en Colombia el número de personas fueron 73 personas. Se estima que el costo económico anual es de \$6879 millones en los EE. UU y €2,400 millones en la Unión Europea (Zhu et al. 2017). Esto se debe a que, las aves de corral son reservorio de *Campylobacter* sp. el sistema de inspección de la carne de pollo basándose en el análisis de la información de la cadena alimentaria y en la inspección visual de aves y canales, no sirve para detectar aves contaminadas con *Campylobacter* sp. además, la transmisión horizontal de *Campylobacter* sp. se asocia principalmente a la etapa de beneficio a causa de las lesiones macroscópicas por infecciones generales y por dermatitis (Alpigiani et al. 2017), puesto que la carne puede resultar contaminada por el ambiente de la planta al momento del beneficio, a causa de agentes patógenos como *Campylobacter* sp. que pueden permanecer en la superficie de la carne o penetrar el tejido muscular por el uso inadecuado de algún utensilio. De este modo, las etapas reportadas como etapas de contaminación son el escaldado y el eviscerado, puesto que se debe evitar que las vísceras contaminen el canal (Martínez & Verhelst 2015).

De este modo, determinar la prevalencia de *Campylobacter* sp. en una planta avícola a corto plazo evitaría que los productos avícolas contaminados por la misma lleguen al consumidor previniendo así la infección por dicho microorganismo y disminuyendo los costos en salud.

2. Justificación y planteamiento del problema.

En los últimos años en el mundo el consumo de pollo por persona ha aumentado de 12,9 Kg en el año 2000 a 15,2 Kg en el año 2017, en consecuencia, han aumentado las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), dado que se asume que entre un 15-20% de las toxiinfecciones alimentarias están directamente ligadas con el consumo de carne de pollo y/o sus derivados (Temprado, 2005). Se ha reportado que la mayoría de ETA son causadas por microorganismos patógenos que en el intestino pueden multiplicarse y producir toxinas o invadir la pared intestinal. Algunos de los microorganismos causantes de ETA son, *Salmonella* sp. siendo el agente más importante que causa enfermedades agudas tras el consumo de alimentos, principalmente de origen animal, específicamente la carne, y los huevos, postres, helados. *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* (STEC), *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* spp. y *Listeria monocytogenes*, siendo los seis agentes patógenos responsables de las hospitalizaciones y muertes en Estados Unidos, se evidencia que anualmente de 9,4 millones de personas enfermas son 55,961 personas quienes terminan hospitalizadas y 1351 son las que mueren (Scallan et al. 2011), en el año 2015 se reportaron 21 brotes por *Campylobacter* sp. 212 enfermos y 16 hospitalizados, confirmando que *Campylobacter* sp es el quinto patógeno más común causante de brotes, hospitalizaciones y muertes, no obstante en 2009 se reportó, el aumento en la incidencia en enfermedades relacionadas al tracto gastrointestinal causados por *Campylobacter* sp. alcanzando 195 casos por 100.000 habitantes en República Checa, a comparación de la incidencia de infecciones gastrointestinal causadas por *Salmonella* sp. el cual fue solo de 103 casos por 100.000 habitantes (CDC 2017) (Bardoñ et al. 2011). En la **Tabla 1.** se puede observar la prevalencia de *Campylobacter* sp. en diferentes partes del mundo y la relación que existe entre muestras y % de prevalencia.

Colombia es un país tropical y con climas cálidos que permiten una alta prevalencia de microorganismos patógenos, afectando la economía en pérdidas incalculables y la salud pública que en comparación con países desarrollados estas son causadas por el bajo desarrollo de los servicios veterinarios y de salud pública (Mattar et al. 2000).

El consumo de pollo por persona en Colombia también ha aumentado de 14,2 Kg en el año 2000 a 32,3 Kg en el año 2017, a si mismo se ha evidenciado que las ETA han aumentado causando enfermedades diarreicas agudas, en el año 2012 se notificó en Colombia al Sistema Nacional de Vigilancia un total de 11836 casos involucrados en 1004 brotes (Realpe-Delgado et al. 2016). Sin embargo, los estudios realizados son muy limitados y únicamente se tienen registros en niños menores de 5 años sin ningún seguimiento y por lo tanto no permiten una aproximación a la situación real (Rodríguez Gutiérrez et al. 2015).

Tabla 1. Prevalencia de *Campylobacter* sp. en diferentes partes del mundo.

País	Presentación pollo	Muestras	Prevalencia (%)	Referencia
China	Pollo en canal	259	79,5	(Zhu et al. 2017)
Croacia	Pollo fresco	241	73,9	(Mikulic et al. 2016)
México	Pollo fresco	76	81	(Rodríguez et al. 2016)
Argentina	Pollo en canal	10	60	(Giacoboni, Tellechea, & Agostini 2002)
Colombia	Pollo en canal	19 plantas	10,9	(INS, UERIA & MinSalud. 2013)

Fuente: autor.

3. Marco teórico.

3.1. Descripción microbiológica de *Campylobacter* sp.

Campylobacter sp. es un bacilo Gram negativo, su forma de curva, termofílica, su temperatura óptima es entre 42 – 43°C, igualmente es necesario que la atmósfera tenga una concentración de oxígeno de 5% y 10% de dióxido de carbono debido a que es una bacteria microaerófila. Las especies causantes de gastroenteritis son, *C.lari*, *C.coli* y *C.jejuni*, el cual origina el 90-95% de la enfermedad (Canals & Rosell 2005) (Fernández & Pérez-Pérez 2016).

La principal vía de transmisión de *Campylobacter* sp, se da por el consumo de alimentos contaminados, principalmente de origen avícola, agua y leche no pasteurizada, así como por el contacto directo con animales (aves) o sus heces (Ochoa et al. 2016).

Por lo tanto, *Campylobacter* sp. se asocia a la piel, plumas y específicamente al tracto gastrointestinal de aves de corral donde es saprófito, se ha establecido que más del 80% de las aves son positivas a *Campylobacter* sp. El principal reservorio, se establece y se reproduce en el tracto gastrointestinal de las aves especialmente el ciego y buche. Durante el procesamiento, cuando se realiza la remoción de vísceras una vez que la canal es desplumada y enjuagada, se presenta la posibilidad de ruptura de estas estructuras por lo que este microorganismo puede ser transferido a la canal en donde sobrevive, además se ha evidenciado que entre el 50% al 70% de las infecciones por campilobacteriosis en humanos se debe al consumo de productos avícolas (Castañeda et al. 2013). En Estados Unidos en el año 2015 se observaron 17 brotes alimentarios y 172 enfermos por campilobacteriosis, en la **Tabla 2.** se identifican diferentes locaciones en donde se presentan brotes y enfermos por cada uno de ellos (Centers for Disease Control and Prevention. 2017).

Tabla 2. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados a *Campylobacter* sp.

Locaciones	Brotes alimentarios	Enfermos
Banquetes	2	24
Restaurantes	6	29
Otras locaciones comerciales	3	9
Lugares institucionales	2	74
Hogar	4	36

Centers for Disease Control and Prevention, 2017.

3.2. Epidemiología

Las características principales de una infección por *Campylobacter* sp. son gastroenteritis aguda con diarrea con sangre y/o vómito durante los 2 a 5 días siguientes, a su vez causa fiebre dolor abdominal y malestar común en las primeras etapas de la enfermedad (Bryan & Doyle 1994). *Campylobacter fetus* es una de las especies más invasivas, debido a que se puede propagar por el organismo del feto, lo que causa una infección sistemática, provocando septicemia, neumonía, meningitis y, en mujeres embarazadas, infección del feto, que a veces puede llevar a aborto espontáneo, en casos esporádicos (CDC 2013). En la mayoría

de los casos puede llegar a ser una enfermedad auto limitante, causando complicaciones neurológicas, como el Síndrome de Guillain-Barré y el Síndrome de Reiter (Ceniceros et al. 2016).

El síndrome de Guillain-Barré, es un trastorno autoinmunitario que se presenta después de una infección pulmonar o gastrointestinal, se relaciona con múltiples etiologías infecciones, pero principalmente a *C. jejuni* entre el 26% y 41% de los casos, se puede presentar a cualquier edad, sin embargo, es más común en personas entre los 30 y 50 años (Rees et al. 2004).

Este síndrome produce parálisis ascendente posinfecciosa aguda, afectando a los miembros inferiores, posteriormente progresa a brazos o a los músculos de la cara en horas o días, afectando nervios periféricos y craneales afectando el nervio facial, el nervio glossofaríngeo y el nervio hipogloso (INS, UERIA y MinSalud, 2013).

La población susceptible en países en desarrollo son los bebés y niños menores de 5 años, mientras que, en los países desarrollados, el grupo de edad son los adultos jóvenes entre 20 a 30 años. Estos picos se relacionan con los tiempos de destete y cuando las personas establecen sus propias tareas de limpieza y preparación de alimentos (Bryan & Doyle 1994) (INS et al. 2013).

La dosis mínima infectiva es baja, dependiendo de la edad y salud del huésped, así como de la cepa por las diferencias que existen entre miembros del mismo género, sin embargo el rango es de 500 a 800 unidades formadoras de colonias (Castañeda et al. 2013) (Rodríguez et al. 2015).

3.3. Etapas de beneficio

- 3.3.1. Ayuno: el alimento debe retenerse de las aves de corral durante al menos cuatro horas antes de que las aves lleguen a la planta de beneficio. Esto asegura que las aves estén significativamente vacías y sus heces secas. Si el período es mayor a las 8 horas, las heces se vuelven más fluidas y aumentan las posibilidades de contaminación cruzada entre las aves durante el transporte (Siverside and Jones 1992).
- 3.3.2. Captura: las aves deben ser recogidas suavemente con la mano y cargadas cuidadosamente en sus cajas, evitando magulladuras de la carne y la rotura de los huesos (Siverside and Jones 1992).
- 3.3.3. Recepción: Al llegar al matadero, las cajas deben descargarse cuidadosamente del transporte en el área de recepción. Para mantener a los pájaros quietos, la iluminación en esta área y el área donde se cuelga debe ser controlada. Después de la descarga, las aves de corral deben mantenerse por el tiempo mínimo antes del sacrificio. Posteriormente las aves son retiradas de las jaulas y se cuelgan de sus extremidades en un transportador aéreo o cadena de beneficio, provisto de ganchos individuales (Aguilera 2014) (Siverside and Jones 1992).
- 3.3.4. Aturdimiento: las aves son insensibilizadas mediante un choque eléctrico, se realiza por medio de inmersión en un baño de agua por donde se pasa una corriente eléctrica de 50 V, durante 46 segundos. La corriente eléctrica pasa desde la cabeza hasta los ganchos provocando la insensibilización y relajando los esfínteres causando la salida de heces con microorganismos que contaminan la superficie del cuerpo (Siverside and Jones 1992).
- 3.3.5. Degüello: las aves son degolladas para permitir el desangrado por un tiempo mínimo de 90 segundos. El corte se inicia colocando la cuchilla justo detrás y debajo del lóbulo de la oreja, el cuchillo debe dirigirse hacia adelante por una pequeña distancia justo detrás del hueso de la mandíbula, al mismo tiempo, se gira ligeramente la cabeza generando presión hacia arriba.

La tráquea (tubo de viento) no debe cortarse ni cortarse el hueso del cuello ya que esto conduce a un sangrado incompleto y hace que el desplume sea más difícil (Aguilera 2014) (Siverside and Jones 1992).

- 3.3.6. Desangrado: el proceso más adecuado se basa en el descenso rápido de la presión sanguínea, debido a que permanecen intactos los órganos donde asientan la mayoría de los nervios que regulan la circulación manteniendo la tensión sanguínea y cuando disminuye el volumen de sangre, las arterias no pueden contraerse, teniendo lugar los movimientos musculares como reflejos, produciendo sacudidas bruscas que permiten la efusión sanguínea casi completa, favoreciendo una larga conservación de la carne (Aguilera 2014).



Imagen 1. Etapa de desangrado

- 3.3.7. Escaldado: las aves se sumergen en un tanque con agua caliente (51,5°C) durante 3 minutos con el objetivo de facilitar la remoción de las plumas en la etapa posterior puesto que, produce una dilatación de los folículos que facilita la posterior eliminación de las plumas y dar un choque térmico para eliminar parte de la carga microbiana (Aguilera 2014). Si el ave está viva cuando entra en el tanque escaldado, la tráquea, el esófago, la molleja, los pulmones y los sacos aéreos se contaminan con el agua (Siverside and Jones 1992).



Imagen 2. Etapa de escaldado

- 3.3.8. Desplumado: las aves que salen de la etapa de escaldado pasan por el desplume, debido a que los folículos fueron dilatados previamente, de este modo se evita causar daño en la carne de

pollo. Este proceso se realiza por medio de dedos de caucho, el agua contribuye a mantener las ranuras despejadas para facilitar la retirada de las plumas, sin embargo, esta etapa puede afectar la ternez de las aves, por lo que se debe tener en cuenta la temperatura y los tiempos como máximo este proceso dura 2 minutos (Aguilera 2014) (Silverside and Jones 1992).

- 3.3.9. Evisceración: esta etapa se realiza en una zona aislada de las demás áreas de la planta en donde, se realiza el corte de cabeza, extrayendo la tráquea y la cloaca. En esta área, se extrae y separan las vísceras de la cavidad abdominal (manual o automática), el hígado, corazón y las mollejas se separan de las demás vísceras y se someten a lavado y enfriamiento en una línea de proceso independiente de las canales (Aguilera 2014).



Imagen 3. Etapa de evisceración

- 3.3.10. Pre-chiller: las aves ya desplumadas y evisceradas, son sumergidas en el tanque de preenfriamiento, que contiene agua a una temperatura de 36-37°C con una concentración de desinfectante de 20 ppm, con el objetivo de remover los residuos de sangre y grasa y bajar la temperatura de las canales (Aguilera 2014).



Imagen 4. Etapa de Pre-chiller

- 3.3.5. Chiller: en el tanque de enfriamiento que contiene agua a una temperatura de 0-2°C con una concentración de desinfectante mínima de 50 ppm, se mantienen por 30-45 minutos las canales, con una temperatura final de 4°C de las canales, posteriormente se empacan y almacenan en cuartos fríos (Aguilera 2014) (Silverside and Jones 1992).
- 3.3.6. Empaque: el pollo es clasifica de acuerdo con su peso, posteriormente se empaca y se refrigera a 4°C para su distribución (Aguilera 2014).

3.4. **Método de ensayo de detección molecular 3M (MDS)**

La técnica de amplificación isotérmica mediada por loops es una técnica rápida, simple y eficiente a una temperatura constante que puede detectar una amplia gama de analitos, incluidos ácidos nucleicos, proteínas, pequeñas moléculas biológicas, iones e incluso células. El método MDS fue diseñado para la detección rápida y específica de *Campylobacter* sp. en muestras de alimentos después del enriquecimiento. Se utiliza amplificación isotérmica mediada por loops para amplificar rápidamente el ADN de *Campylobacter* sp. con alta especificidad y sensibilidad combinado con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los presuntos resultados positivos se informan en tiempo real y los negativos se muestran al finalizar el análisis (Bird et al. 2013).

La técnica de amplificación se basa en una reacción que necesita cuatro cebadores específicos diferentes (cebador interno hacia adelante, cebador interno hacia atrás y dos cebadores) para identificar seis regiones específicas del amplificado la secuencia de ADN y la síntesis de ADN de desplazamiento de cadena de autociclo la cual se realiza mediante ADN polimerasa (Qi et al. 2018).

3.5. **Método bioquímico API**

La galería API Campy es un sistema de pruebas múltiples el cual tiene como objetivo diferenciar e identificar microorganismo debido a que pueden diferir mucho su actividad bioquímica dependiendo de la familia y hasta el género, en este caso identifica a *Campylobacter* mediante análisis miniaturizados y una base de datos específicamente (MacFaddin, 2003).

El fundamento de la galería API Campy consiste en 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados, los cuales están compuesto de dos partes. La primera parte de la tira, pruebas enzimáticas y convencionales, como urea, nitratos, entre otros, se inocula con una suspensión densa que rehidrata los sustratos. Durante la incubación en condiciones aeróbicas, el metabolismo produce cambios de color que son espontáneos o revelados por la adición de reactivos.

La segunda parte de la tira son pruebas de asimilación o inhibición en donde se inocula con un medio mínimo y se incuba en condiciones microaerófilas. Las bacterias crecen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente o si son resistentes al antibiótico probado, en esta parte se encuentra la glucosa, succinato, ácido nalidíxico, entre otros (BioMérieux 2012).

4. Objetivos.

4.1. Objetivos generales

Determinar la prevalencia de *Campylobacter* sp. en una planta avícola ubicada en el departamento del Meta.

4.2. Objetivos específicos

- Establecer las etapas críticas de contaminación por *Campylobacter* sp. durante todo el proceso de beneficio.
- Proponer acciones de mejora para controlar y disminuir la prevalencia de *Campylobacter* sp. durante las etapas establecidas anteriormente.

5. Metodología.

La planta avícola seleccionada se encuentra en el departamento de Meta, esta planta beneficia aproximadamente 3000 aves en cada viaje y diariamente realizan 12-13 viajes provenientes de dos granjas, para este estudio se realizaron dos muestreos, el primero se tomaron un total de 51 muestras de las cuales 46 correspondiente a enjuague de pollo y 5 de muestras fecales. En el segundo muestreo se tomaron 44 muestras de enjuague y 5 muestras fecales, en total fueron 100 muestras.

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de la Pontificia Universidad Javeriana en donde se siguió el protocolo MLG 41.04 USDA-FSIS “Aislamiento e identificación de *Campylobacter jejuni/lari/coli/* partir de muestras de enjuague de aves, esponjas y productos crudos”

Se tomaron muestras en diferentes etapas del proceso de beneficio, tales como materia fecal, enjuague de pollos en la salida de pre-escaldado, salida de post-escaldado, salida de post-intervención, salida canales de pre-Chiller y salida canales Chiller, las cuales fueron tomadas para determinar la prevalencia en cada una de las etapas e identificar cuáles de estas son críticas en el beneficio de las aves, el número de muestras para cada muestreo y etapa se especifica en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Número de muestras por cada etapa.

Etapa	Primer muestreo	Segundo muestreo
	Número de muestras	
Heces	5	5
Pre-escaldado	8	7
Post-escaldado	8	7
Post-desplume	8	7
Post-intervención	8	7
Pre-chiller	7	8
Post-chiller	7	8

Fuente: autor

Para el primer muestreo en el proceso de placa se tomaron 250 μ L de la muestra y se sirvieron en una placa de medio selectivo (Campy-cefex), el medio se incubo durante 24 horas a 42°C aplicando las condiciones microaerobias apropiadas (USDA-FSIS 2016). En el segundo muestro se realizó la metodología de filtración por membrana sobre placas de Campy-cefex.

A la hora de examinar las placas, se identificaron las colonias típicas, siendo translucidas o mucoides, brillantes y de color rosado, planas o ligeramente elevadas, luego se seleccionó una colonia que cumpliera con las características descritas anteriormente para su debida confirmación.

Con la colonia seleccionada del primer muestreo se suspendió en una gota de solución salina estéril en una lámina, posteriormente se examinó bajo inmersión en aceite usando microscopia, evidenciando la

morfología y la motilidad siendo presuntamente positivas, simultáneamente se hizo una prueba molecular para la detección de patógenos por medio de amplificación isotérmica, el sistema MDS de 3M.

Al mismo tiempo se realizó la prueba de movilidad a las colonias aisladas y confirmadas por el método molecular, en ambos muestreos. Para el segundo muestreo se confirmó por el sistema bioquímico API-Campy. La prevalencia se determinó con la siguiente ecuación:

$$Prevalencia (\%) = \frac{Muestras\ positivas}{Muestras\ totales} * 100 \quad (1)$$

Posteriormente se propusieron acciones de mejora para disminuir la prevalencia de *Campylobacter* sp. en las diferentes etapas del proceso de beneficio, las cuales se basaron en monitoreo de temperatura y concentración de desinfectante.

Para establecer las diferencias significativas en prevalencia (%) de *Campylobacter* sp. en las etapas de beneficio antes y después de la implementación de acciones de mejora, se realizó ANOVA con prueba Tukey utilizando un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$), con $p < 0,05$ considerándose estadísticamente significativa, por medio del programa SigmaPlot.

6. Resultados y discusión.

La totalidad de las muestras fueron sembradas en placa, sin embargo solo se pudo realizar recuento en las muestras correspondientes a las etapas de pre-chiller y chiller, con recuentos de $1,7 \times 10^2$ y $3,4 \times 10^1$ UFC/mL respectivamente, estos debido a que en las etapas anteriores la concentración de *Campylobacter* era muy alta de acuerdo con la literatura en etapas pre-escaldado la concentración se encuentra entre $2,3 \times 10^8$ y $8,3 \times 10^8$ UFC/mL y en la etapa de post-escaldado esta $4,3 \times 10^6$ y 1×10^7 UFC/mL (Duffy et al.2014), de acuerdo con algunos autores las concentraciones reportadas en las etapas de pre-chiller y chiller en medio Campy-cefex fue de $9,8 \times 10^2$ y $1,5 \times 10^2$ UFC/mL respectivamente, sugiriendo que el proceso de beneficio puede tener un efecto sobre los microorganismos debido a que la concentración de microorganismos a lo largo de la línea de proceso disminuye, por lo que se sugiere controlar la higiene en el proceso de beneficio y monitorear estas medidas para disminuir la concentración de *Campylobacter* sp. en el pollo (Gonsalves et al. 2016). En la **Tabla 4.** se presentan una comparación entre los resultados obtenidos en donde se observan datos de diferentes viajes.

Tabla 4. Comparación de recuentos en la etapa de Pre-chiller y Chiller.

	Pre-chiller (UFC/mL)	Chiller (UFC/mL)
Proyecto	$1,7 \times 10^2$	$3,4 \times 10^1$
(Gonsalves et al. 2016)	$9,8 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
	Número de viaje	
(Seliwiorstow et al. 2015)	1	$1,3 \times 10^3$
	2	$1,8 \times 10^3$
	3	$2,7 \times 10^3$
	4	$4,9 \times 10^2$
(Duffy et al. 2014)	1	$4,8 \times 10^3$
	2	$3,7 \times 10^5$
	3	$5,1 \times 10^2$
	4	$1,1 \times 10^2$

Fuente: autor

Simultáneamente todas las muestras se analizaron con el método molecular MDS, las muestras positivas reportadas por el equipo fueron las heces, la etapa de pre-escaldado, post-escaldado, post-desplume, post-intervención, pre-chiller y chille para el primer muestreo, en el segundo muestreo solo se reportó una muestra positiva correspondiente a pre-escaldado y siete muestras dieron como resultado incertidumbre por lo que fueron confirmadas por medio de la prueba de movilidad en fresco, las cuales dieron positivas. En el muestreo después de implementar acciones de mejora, las muestras se sembraron por filtración por membrana, sin embargo, no se logró realizar el recuento ya que no hubo crecimiento en ninguna de las cajas. Al mismo tiempo, se realizó el método molecular MDS el cual solo reporto una muestra positiva

correspondiente a la etapa de pre-escaldado, sin embargo, el equipo reporto 10 muestras con incertidumbre, por lo tanto, se realizó la confirmación de estas por medio de movilidad siendo positivas en su totalidad, la muestra reportada positiva por el método molecular se aisló y se identificó por medio del sistema miniaturizado API.

A continuación, se presentan los datos correspondientes a la prevalencia de *Campylobacter* sp. en los dos muestreos realizados previo y posterior a las acciones de mejora para la disminución de la prevalencia, en el primer muestreo la prevalencia durante todo el proceso fue de 76,1% mientras que en el segundo muestreo fue de 20,4%. En el **Fig. 1.** se observan la prevalencia de *Campylobacter* sp. en porcentaje en las diferentes etapas del beneficio, en donde se logró observar diferencias significativas entre los datos de las dos visitas de muestreo ($p < 0,001$). Antes de implementar las acciones de mejora en los diferentes parámetros la prevalencia no fue menor a 50% previo a las acciones de mejora la prevalencia fue menor hasta en un 14%. Comparando los valores iniciales con los valores finales del parámetro evaluado, hubo una disminución significativa en la mayoría de las etapas, sin embargo, en la etapa de Pre-escaldado hubo un aumento del 8,9%.

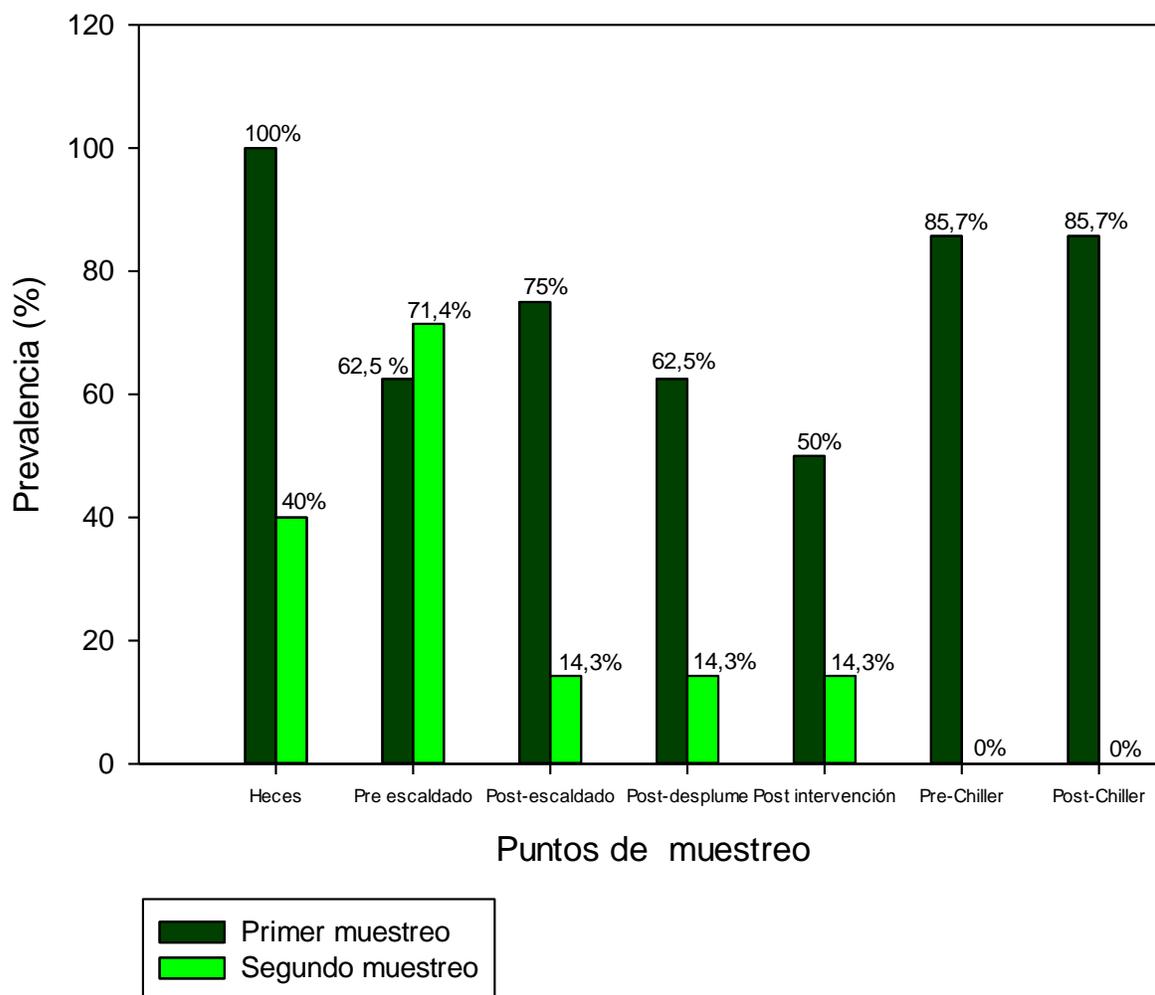


Fig. 1. Figura1. Prevalencia de *Campylobacter* sp. en cada etapa muestreada (%).

Se obtuvo una prevalencia de *Campylobacter* sp. del 100% en las muestras fecales, de acuerdo con un estudio realizado en la India la prevalencia fue menor en comparación de los datos obtenidos, sin embargo, afirman que efectivamente se puede encontrar *Campylobacter* sp. en muestras fecales correspondientes a pollos siendo 64% de prevalencia, logrando identificar a *C. jejuni*, esto se podría deber a que se ha documentado que el pollo es un reservorio de *Campylobacter* sp. con tasas de prevalencia entre el 39.3% y 48% (Ajajampur et al. 2012).

En los procesos previos al beneficio como el aturdimiento hay una defecación que ensucia la piel y las plumas cercanas lo que puede esparcir contaminaciones (Bryan and Doyle 1994), además existe una alta prevalencia en el ambiente, atribuyéndose al aleteo y a los movimientos excesivos de las aves durante la manipulación para el colgado a la línea de procesamiento. (Castañeda Serrano et al. 2013), de este modo en la etapa de pre-escaldado, la cual corresponde a la etapa posterior al aturdimiento, en donde se desangra el pollo se observó una prevalencia de 62,5%, la causa de la alta prevalencia pudo ser en consecuencia a que en este punto no hay ningún procedimiento que actué sobre los microorganismos y vienen directamente de las jaulas de transporte las cuales han sido descritos como posible fuente de contaminación externa de las aves (García-Sánchez et al. 2017).

Igualmente las condiciones en que se realiza el beneficio del pollo de manera industrial no elimina en su totalidad la carga bacteriana, en el escaldado en donde hay altas temperaturas (56°C) reduciendo el número de bacterias, lo cual se puede evidenciar puesto que en la prevalencia en el post escaldado disminuyó a 75% antes de las acciones de mejora después de las acciones de mejora disminuyó a 14% este último resultado concuerda con la literatura debido a que se conoce que algunos de los patógenos en las plumas, las patas y la piel, pueden morir debido a las altas temperaturas del agua, sin embargo algunos pueden flotar en agua desbordante o pueden sobrevivir y distribuirse en los canales, lo cual sería la causa de la alta prevalencia que se obtuvo en el primer muestreo. Aunque se confirma que las temperaturas que afectan a *Campylobacter* sp. esta entre 58° a 60°C, lo cual se puede relacionar con los datos conseguidos que en el primer muestreo puesto que la temperatura del tanque de escaldado fue de 44°C siendo una temperatura cercana a la óptima de crecimiento de *Campylobacter* sp. (Giacoboni, Tellechea, and Agostini 2002) y (FAO 2009).

No obstante, a temperaturas más altas, se elimina en su totalidad la epidermis, mediante el proceso de desplume el tejido dérmico queda expuesto, proporcionando una nueva superficie para la colonización de microorganismos. Además la superficie de la piel manteniendo una película de agua que retiene materia orgánica soluble y microorganismos, aunque haya reemplazo de agua los microorganismos se acumulan en los tanques a medida que continúa el proceso (Bryan and Doyle 1994).

En la siguiente etapa, correspondiente al post-desplume se evidenció una prevalencia del 75% lo que concuerda con Figueroa y colaboradores, realizaron un estudio en 2009 en Chile, evidenciando una prevalencia del 74% en las muestras después del desplumado y después de la evisceración de un 90%, igualmente analizaron las superficies de la máquina de evisceración y obtuvieron datos similares a las muestras de pollo después de la evisceración (Figueroa et al. 2009).

Asimismo se ha evidenciado que los dedos de goma utilizados para el desplume son una fuente de contaminación puesto que empuja a los microorganismos hacia los tejidos de la piel, grietas y los folículos de las plumas, en modo que los microorganismos resisten a la eliminación durante las operaciones de lavado posteriores, al mismo tiempo se generan aerosoles durante esta operación por los cuales algunos microorganismos pueden transportarse alcanzando canales, equipos, trabajadores y otras superficies ambientales a medida que se sedimentan los aerosoles. Por otro lado, debemos tener en cuenta que el equipo solo se limpia al finalizar la totalidad del beneficio y la limpieza no elimina todos los

microorganismos, ni la materia orgánica, de este modo los microorganismos logran sobrevivir y multiplicarse en las superficies húmedas, sucias y agrietadas (Bryan and Doyle 1994).

Otros autores sugieren que algunas cepas de *Campylobacter* sp. pueden persistir más tiempo sobre las superficies de las maquinas convirtiéndose en una fuente de contaminación cruzada ya que algunas bacterias presentes como *Pseudomonas aeruginosa* prolongan la supervivencia y el crecimiento de algunas cepas de *Campylobacter* como *C.jejuni* en condiciones aeróbicas en la superficie de las biopelículas, además existen cepas de *Campylobacter* capaces de formar un biofilm mono-específico en donde podrían entrar en estado viable pero no cultivable, sin embargo esto solo se da cuando hay acumulación de materia orgánica en la superficie del equipo protegiendo de este modo a las bacterias del proceso de limpieza y desinfección (García-Sánchez et al. 2017).

De acuerdo con la literatura *Campylobacter coli* es más sensible a condiciones de estrés como temperatura y oxígeno entre otras, lo que concuerda con la disminución de la prevalencia en el post-desplume (62,5%) y post intervención (50%), sin embargo en la etapa de pre-chiller y chiller la prevalencia aumento a 85,71% en ambas etapas, se ha demostrado que *C. coli* puede sobrevivir a estas condiciones lo cual explicaría el aumento de la prevalencia, así mismo se afirma que el principal factor de contaminación por *Campylobacter* sp. se debe a la contaminación externa y por medio del contenido intestinal, confirmando los altos porcentajes de prevalencia que se encontraron en la etapa de desplume y evisceración, en consecuencia a que las plumas y las patas entran en contacto con los excrementos (García-Sánchez et al. 2017).

La evisceración es en donde se encuentran la mayor transferencia de microorganismos que comienza principalmente desde el pollo en la línea hasta las manos de los trabajadores, el equipo y los utensilios con los que entra en contacto el pollo. El corte del tracto gastrointestinal o el manejo inadecuado de las vísceras por parte de los operarios o los equipos mecánicos también propaga la contaminación (Bryan and Doyle 1994). Otro factor de contaminación puede ser el método de limpieza, ya que se realiza con agua a presión generando partículas en las cuales podría movilizarse *Campylobacter* sp., pese a los factores anteriormente mencionados fue la etapa en donde se obtuvo menor prevalencia siendo del 50% (Giacoboni, Tellechea, and Agostini 2002).

El chiller es la siguiente etapa, la cual tiene como objetivo disminuir la temperatura del pollo se mantuvo la temperatura en 11,5°C y se desinfecto por medio de ácido peracético a una concentración de 26,6 ppm, el pollo se sumergió en agua con el desinfectante, en estos tanques algunos microorganismos se diseminan contaminando otros pollos. Los microorganismos sensibles que se desprenden de la piel del pollo mueren en un corto tiempo en el agua del chiller, reduciendo las posibilidades de contaminación cruzado, pero tiene poco efecto sobre las bacterias adheridas a las superficies de la piel y los músculos del pollo (Bryan and Doyle 1994). También debe considerarse que el procesos de pre-chiller y chiller logra eliminar el microorganismo hasta el grado de no detectarla mediante la metodología empleada (Rojas et al. 1996), lo que sería una razón del porque en estas dos etapas después de la intervención no se evidencio presencia de *Campylobacter* sp.

Se debe tener en cuenta la concentración de materia orgánica ya que puede actuar sobre algunos desinfectantes como el cloro inactivándolos, no obstante la materia orgánica tiene un impacto menor en la efectividad del ácido peracético, debido a que libera oxígeno activo que reacciona con los enlaces sulfhídrico y azufre en las proteínas, enzimas y otros metabolitos oxidándose y los dobles enlaces reaccionen interrumpiendo la función quimiosmótica de la membrana citoplasmática de las lipoproteínas y su transporte a través de la dislocación o ruptura de las paredes celulares facilitando se acción contra las bacterias Gram negativas (Kitis 2004) (Sukted et al. 2017), por tanto al aumentar la concentración de ácido

peracético de 10 ppm a 26 ppm aumenta la efectividad del desinfectante y se evidencia como prevalencia del 0% en la etapa de pre-chiller y chiller.

Un factor importante que se evidenció dentro de la planta fue en la zona previa al pre-chiller en donde se encontraba el sistema de ventilación el cual por medio del flujo de aire podría dispersar y dirigir a *Campylobacter* sp. desde la zona de evisceración a la zona de chiller, García y colaboradores confirman que *Campylobacter* sp. puede sobrevivir en el aire hasta después de 8 horas, de este modo se explica el aumento que hubo entre estas dos etapas (García-Sánchez et al. 2017).

La muestra positiva reportada por el equipo MDS se confirmó por medio del sistema miniaturizado API Campy, en donde se determinó que la cepa corresponde a *Campylobacter sputorum fecalis* de acuerdo con literatura se ha informado en Italia que *C. sputorum fecalis* ha una de las cepas con menor prevalencia aislado de muestras de carne de pollo con un 23,8% en comparación con cepas como *Campylobacter coli* la cual tienen mayor prevalencia en carne de pollo siendo de 42,9% (Economou et al. 2015), otros autores realizaron una investigación en Alemania en donde nuevamente identificaron esta cepa en menor concentración (Atanassova and Ring 1999). Además, se ha demostrado que esta cepa puede causar alguna patología ocasionalmente, sin embargo, se considera que hace parte de los tractos digestivos y genitales de bovinos y ovinos, aunque es la cepa con menor frecuencia, igualmente se ha descrito que esta cepa necesita una concentración menor de oxígeno (3%) para que pueda desarrollarse, por lo que se podría suponer que las condiciones previstas en la planta pueden favorecer su sobrevivencia y crecimiento (Terzolo and Catena 2007), sin embargo, se ha evidenciado que el sistema API Campy no identifica de manera correcta al 100% Liu y colaboradores en 2017 han informado que el sistema Api identifico *C. sputorum* con una tasa de identificación correcta solo del 50%, lo que concuerda con los datos obtenidos puesto que hay algunas pruebas que no coinciden con la cepa informada (Liu et al. 2017). Además, se ha reportado que esta cepa tiene la capacidad de formar biofilms esporádicamente en superficies como el acero inoxidable del cual están hechas las máquinas de las diferentes etapas del beneficio (Gunther IV and Chen 2009).

De acuerdo con Sabike y colaboradores en el año 2017, han confirmado que el método molecular es efectivo en cuanto a la identificación de cepas como *C. coli* y *C. jejuni*, puesto que el método está diseñado para detectar cepas patógenas, el objetivo de estudio era verificar si el método era específico a estas cepas por lo que compararon los resultados del método molecular con resultados de cultivo en placa, de este modo el método molecular detecto 38 muestras positivas y 93 negativas las cuales correspondían con el cultivo en placa, asegurando que el método es sensible y específico. La sensibilidad del método para la detección de *C. coli* y *C. jejuni* de muestras de pollo de engorde enriquecidas esta entre 3,6 y 3,3 log UFC/g, sin embargo existen componentes que pueden interferir con el método (Sabike et al. 2017).

Las acciones de mejora propuestas para reducir la prevalencia de *Campylobacter* sp. en pollo para consumo humano fueron monitorear temperaturas en los tanques de escaldo, pre-chiller y chiller y estas dos últimas, monitorear la concentración del desinfectante, las cuales fueron efectivas en la disminución de *Campylobacter* sp. debido a que en la mayoría de las etapas la prevalencia fue menor en comparación con el primer muestreo. Algunos autores como Havelaar y colaboradores (2017) sugieren mejoras en fugas fecales en la etapa de recepción, descontaminación de los tanques de escaldado, descontaminación de cadáveres solo sumergiéndolos en desinfectante en vez de rociarlo (Havelaar et al. 2007).

7. Conclusiones.

Se determinó la prevalencia de *Campylobacter* sp. a partir de muestras de canales en la planta avícola ubicada en el departamento del Meta.

Se lograron identificar las etapas críticas durante el proceso de beneficio las cuales fueron desangrado, escaldado, evisceración, pre-chiller y chiller, en donde puede existir contaminación por *Campylobacter* sp. en pollos para consumo humano.

Las acciones de mejora durante el beneficio de aves a ser consideradas son: controles de temperaturas en las etapas de escaldado, pre-chiller y chiller, verificación de las concentraciones de desinfectantes en las anteriores etapas para lograr disminuir la prevalencia de *Campylobacter* sp.

8. Referencias.

1. Aguilera, María. 2014. “Determinantes Del Desarrollo En La Avicultura En Colombia: Instituciones , Organizaciones Y Tecnología.” *Documentos de Trabajo Sobre Economía Regional*.
2. Ajjampur, SS, S Babji, DP Rajan, P Rajendran, AT George, and G Kang. 2012. “Detection and Species Identification of Campylobacter in Stool Samples of Children and Animals from Vellore, South India.” *Indian Journal of Medical Microbiology* 30 (1): 85. doi:10.4103/0255-0857.93049.
3. Alpigiani, Irene, Josè Cortinas Abrahantes, Virginie Michel, Adeline Huneau-Salaün, Marianne Chemaly, Linda Jane Keeling, Andrea Gervelmeyer, et al. 2017. “Associations between Animal Welfare Indicators and Campylobacter Spp. in Broiler Chickens under Commercial Settings: A Case Study.” *Preventive Veterinary Medicine* 147 (September 2016). Elsevier: 186–93. doi:10.1016/j.prevetmed.2017.09.005.
4. Atanassova, Viktoria, and Christian Ring. 1999. “Prevalence of Campylobacter Spp. in Poultry and Poultry Meat in Germany.” *International Journal of Food Microbiology* 51 (2–3): 187–90. doi:10.1016/S0168-1605(99)00120-8.
5. Bardoň, J., M. Kolář, R. Karpíšková, and K. Hricová. 2011. “Prevalence of Thermotolerant Campylobacter Spp. in Broilers at Retail in the Czech Republic and Their Antibiotic Resistance.” *Food Control* 22 (2): 328–32. doi:10.1016/j.foodcont.2010.08.001.
6. BioMérieux. 2012. “Identification System for Campylobacter.” Recuperado de: <https://biomerieuxdirect.com/industry/Bacteriology/ID-AST-Manual/c/C?q=%3Arelevance%3AfacetApplication%3AIdentification+-+Manual%3Acategory%3AC01%3AfacetOrganism%3ACampylobacter>
7. Bird, Patrick, Kiel Fisher, Megan Boyle, Travis Huffman, M. Joseph Benzinger, Paige Bedinghaus, Jonathan Flannery, et al. 2013. “Evaluation of 3M??? Molecular Detection Assay (MDA) Salmonella for the Detection of Salmonella in Selected Foods: Collaborative Study.” *Journal of AOAC International* 96 (6): 1325–35. doi:10.5740/jaoacint.13-227.
8. Bryan, Frank L, and Michael P Doyle. 1994. “Health Risks and Consequences of Salmonella and Campylobacter Jejuni in Raw Poultry.” *Journal of Food Protection* 58 (3): 326–44. <http://www.jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-58.3.326>.
9. Canals, A, and J. Rosell. 2005. “Campylobacteriosis En Aves de Corral.” Departamento de Sanitat y Seguretat Social. Generalitat de Catalunya. Veterinario Oficial Matadero de Aves Moré, S.A. (Argentina) 2 (1): 22–25.
10. Castañeda Serrano, María del Pilar., Diego. Braña Varela, Cecilia. Rosario Cortés, and Wendy. Martínez Valdés. 2013. *Calidad Microbiológica de La Carne de Pollo. Selecciones Avícolas*. Vol. 9. Querétaro.
11. CDC. 2013. “Human Infections with New Subspecies of Campylobacter Fetus.” *Emerging Infectious Diseases* 19 (10): 1678–80. doi:10.3201/eid1910.130883.
12. Centers for Disease Control and Prevention. 2017. “Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2015: Annual Report.”

13. Chakeri, A, M S H Foroushani, Z Torki, E Rahimi, and A G Ebadi. 2012. "Prevalence of Campylobacters Species in Fecal Samples from Cats and Dogs in Iran." *Journal of Pure and Applied Microbiology* 6 (4): 1823–27.
14. Duffy, Lesley L., Patrick J. Blackall, Rowland N. Cobbold, and Narelle Fegan. 2014. "Quantitative Effects of In-Line Operations on Campylobacter and Escherichia Coli through Two Australian Broiler Processing Plants." *International Journal of Food Microbiology* 188. Elsevier B.V.: 128–34. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.024.
15. Economou, Vangelis, Nikolaos Zisides, Panagiota Gousia, Stefanos Petsios, Hercules Sakkas, Nikolaos Soultos, and Chrissanthy Papadopoulou. 2015. "Prevalence and Antimicrobial Profile of Campylobacter Isolates from Free-Range and Conventional Farming Chicken Meat during a 6-Year Survey." *Food Control* 56. Elsevier Ltd: 161–68. doi:10.1016/j.foodcont.2015.03.022.
16. FAO. 2009. "Evaluación de Riesgos de Campylobacter Spp . En Pollos Para Asar," 56.
17. Fernández, H., and G. Pérez-Pérez. 2016. "Campylobacter: Fluoroquinolone Resistance in Latin-American Countries." *Archivos de Medicina Veterinaria* 48 (3): 255–59.
18. Figueroa, Guillermo, Miriam Troncoso, Cristián López, Patricia Rivas, and Magaly Toro. 2009. "Occurrence and Enumeration of Campylobacter Spp. during the Processing of Chilean Broilers." *BMC Microbiology* 9. doi:10.1186/1471-2180-9-94.
19. García-Sánchez, Lourdes, Beatriz Melero, Isabel Jaime, Marja Liisa Hänninen, Mirko Rossi, and Jordi Rovira. 2017. "Campylobacter Jejuni Survival in a Poultry Processing Plant Environment." *Food Microbiology* 65: 185–92. doi:10.1016/j.fm.2017.02.009.
20. Giacoboni, G, D Tellechea, and A Agostini. 2002. "Campylobacter Jejuni En Una Granja de Pollos Camperos." *Analecta Veterinaria* 22 (2): 42–47.
21. Gonsalves, Camila Cristina, Anderlise Borsoi, Gustavo Perdoncini, Laura Beatriz Rodrigues, and Vladimir Pinheiro do Nascimento. 2016. "Campylobacter in Broiler Slaughter Samples Assessed by Direct Count on MCCDA and Campy-Cefex Agar." *Brazilian Journal of Microbiology* 47 (3). Sociedade Brasileira de Microbiologia: 764–69. doi:10.1016/j.bjm.2016.04.025.
22. Gunther IV, Nereus W., and Chin Yi Chen. 2009. "The Biofilm Forming Potential of Bacterial Species in the Genus Campylobacter." *Food Microbiology* 26 (1). Elsevier Ltd: 44–51. doi:10.1016/j.fm.2008.07.012.
23. Havelaar, Arie H., Marie Josee J Mangen, Aline A. De Koeijer, Marc Jeroen Bogaardt, Eric G. Evers, Wilma F. Jacobs-Reitsma, Wilfrid Van Pelt, et al. 2007. "Effectiveness and Efficiency of Controlling Campylobacter on Broiler Chicken Meat." *Risk Analysis* 27 (4): 831–44. doi:10.1111/j.1539-6924.2007.00926.x.
24. Instituto Nacional de Salud, INS, UERIA Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos, and MINSALUD Ministerio de Salud y la Protección Social. 2013. "Perfil de Riesgo de Campylobacter Spp. En Pollos de Engorde." doi:10.1007/SpringerReference_70419.

25. Kitis, Mehmet. 2004. "Disinfection of Wastewater with Peracetic Acid: A Review." *Environment International* 30 (1): 47–55. doi:10.1016/S0160-4120(03)00147-8.
26. Liu, Yen Hung, Wataru Yamazaki, Yu Tsung Huang, Chun Hsing Liao, Wang Hui Sheng, and Po Ren Hsueh. 2017. "Clinical and Microbiological Characteristics of Patients with Bacteremia Caused by Campylobacter Species with an Emphasis on the Subspecies of *C. Fetus*." *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 10. Elsevier Taiwan LLC: 1–10. doi:10.1016/j.jmii.2017.07.009.
27. MacFaddin, Jean. 2003. *Pruebas Bioquímicas Para La Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. 3°.
28. Martínez, Cesar, and Adriana Verhelst. 2015. "Calidad Microbiologica de Carne Bovina En Plantas de Beneficio." *Limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria* 13 (1): 72–80.
29. Mattar, Salim, Jorge Visbal, and Augusto Bermúdez. 2000. "Zoonosis: Cerca o Lejos de Nosotros?" *Revista MVZ Córdoba* 5 (1): 5–9. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3297457>.
30. Mikulić, Marina, Andrea Humski, Bela Njari, Mario Ostović, Sanja Duvnjak, and Željko Cvetnić. 2016. "Prevalence of Thermotolerant Campylobacter Spp. in Chicken Meat in Croatia and Multilocus Sequence Typing of a Small Subset of Campylobacter Jejuni and Campylobacter Coli Isolates." *Food Technology and Biotechnology* 54 (4): 475–81. doi:10.17113/ftb.54.04.16.4647.
31. Moreno, Raúl. 2005. "Calidad de La Carne de Pollo." *Selecciones Avícolas* 47 (6): 347–355.
32. Ochoa, S, R J Simaluiza, and Z Toledo. 2016. "Frequency and Antimicrobial Behaviour of Thermophilic Campylobacter Species Isolated from Ecuadorian Backyard Chickens." *Archivos de Medicina Veterinaria* 48 (1): 311–14.
33. Qi, Hongjie, Shuzhen Yue, Sai Bi, Caifeng Ding, and Weiling Song. 2018. "Isothermal Exponential Amplification Techniques: From Basic Principles to Applications in Electrochemical Biosensors." *Biosensors and Bioelectronics* 110 (January): 207–17. doi:10.1016/j.bios.2018.03.065.
34. Realpe-Delgado, M, Á Muñoz-Delgado, and P Donado-Godoy. 2016. "Epidemiología de Salmonella Spp., Listeria Monocytogenes y Campylobacter Spp ., En La Cadena Productiva Avícola." *Iatreia* 29 (4): 397–406. doi:10.17533/udea.iatreia.v29n4a01.397.
35. Rees, Judy R., Mary Ann Pannier, Alexander McNees, Sue Shallow, Frederick J. Angulo, and Duc J. Vugia. 2004. "Persistent Diarrhea, Arthritis, and Other Complications of Enteric Infections: A Pilot Survey Based on California FoodNet Surveillance, 1998–1999." *Clinical Infectious Diseases* 38 (s3): S311–17. doi:10.1086/381601.
36. Rodríguez Gutiérrez, Victoria, Libia Guzmán Osorio, and Noel Verjan García. 2015. "Campylobacter Spp. in Poultry Products and Its Impact in Public Health." *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 10 (2): 203–13. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=112856225&lang=es&site=ehost-live>.

37. Rodríguez, Rafael, Felipe Gómez Hernández, Héctor Vázquez Sandoval, José Luisa Corona Medina, and Margarita Yolanda Mendoza Ramos. 2016. "Presencia de Campylobacter y Salmonella En Pollo a La Venta En Gómez Palacio Durango , México." *Revista Electrónica de Veterinaria* 17 (6): 1–7.
38. Rojas, X., Y. Rojas, L. Soto, D. Delgado, and F. Hernández. 1996. "Campylobacter Sp. En Pollos Para Consumo Humano." *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* 17 (1): 34–39.
39. Sabike, Islam Ibrahim, Ryoko Uemura, Yumi Kirino, Hirohisa Mekata, Satoshi Sekiguchi, Ayman Samir Farid, Yoshitaka Goto, Yoichiro Horii, and Wataru Yamazaki. 2017. "Assessment of the Campylobacter Jejuni and C. Coli in Broiler Chicken Ceca by Conventional Culture and Loop-Mediated Isothermal Amplification Method." *Food Control* 74. Elsevier Ltd: 107–11. doi:10.1016/j.foodcont.2016.11.037.
40. Scallan, Elaine, Robert M. Hoekstra, Frederick J. Angulo, Robert V. Tauxe, Marc Alain Widdowson, Sharon L. Roy, Jeffery L. Jones, and Patricia M. Griffin. 2011. "Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens." *Emerging Infectious Diseases* 17 (1): 7–15. doi:10.3201/eid1701.P11101.
41. Seliworstow, Tomasz, Julie Baré, Inge Van Damme, Mieke Uyttendaele, and Lieven De Zutter. 2015. "Campylobacter Carcass Contamination throughout the Slaughter Process of Campylobacter-Positive Broiler Batches." *International Journal of Food Microbiology* 194. Elsevier B.V.: 25–31. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.004.
42. Silverside, D., and M. Jones. 1992. *Small-Scale Poultry Processing*.
43. Sukted, Nion, Pravate Tuitemwong, Kooranee Tuitemwong, Wanwisa Poonlapdecha, and Larry E. Erickson. 2017. "Inactivation of Campylobacter during Immersion Chilling of Chicken Carcasses." *Journal of Food Engineering* 202. Elsevier Ltd: 25–33. doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.02.007.
44. Terzolo, Horacio, and María Catena. 2007. "Microbiología Veterinaria . Capítulo 34 : Campylobacter." In *Editorial Inter-Médica*. Vol. 2.
45. USDA-FSIS. 2016. MLG 41.04. Isolation and Identification of Campylobacter Jejuni/Coli/Lari from Poultry Rinse, Sponge, and Raw Product Samples. <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/0273bc3d-2363-45b3-befb-1190c25f3c8b/MLG-41.pdf?MOD=AJPERES>.
46. Zhu, Jianghui, Bai Yao, Xiaoyu Song, Yeru Wang, Shenghui Cui, Haibin Xu, Baowei Yang, et al. 2017. "Prevalence and Quantification of Campylobacter Contamination on Raw Chicken Carcasses for Retail Sale in China." *Food Control* 75. Elsevier Ltd: 196–202. doi:10.1016/j.foodcont.2016.12.007.

9. Anexos

Análisis de varianza de un factor

Test de normalidad (Shapiro-Wilk)	Aprobado	(P = 0,161)				
Test variación igual:	Aprobado	(P = 0,215)				
Nombre del grupo	N	Media	Promedio	Des. Est.	SEM	
Primer muestreo (%)		7	0	74,49	17,274	6,529
Segundo muestreo (%)		7	0	22,041	25,54	9,653
Fuente de variación	DF	SS	MS	F	P	
Entre grupos		1	9628,134	9628,134	20,256	<0,001
Residual		12	5703,972	475,331		
Total		13	15332,106			

Las diferencias en los valores medios entre los grupos de tratamiento son mayores de lo que cabría esperar por azar; hay una diferencia estadísticamente significativa (P = <0,001).

Poder de la prueba realizada con alfa = 0,050: 0,987

Todos los procedimientos de comparación múltiple por pares (Tukey Test):

Comparación por factor:

Comparación	Dif de Medias	p	q	P	P<0,050
% vs. %	52,449		26,365	<0,001	Yes