

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



**FRECUENCIA DE *Campylobacter spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO
PROCEDENTES DE PLANTAS DE FAENAMIENTO QUE SUMINISTRAN AL
CANTÓN AMBATO**

**DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO
VETERINARIO**

AUTOR: JENIFFER VANESA TOAPANTA TOAPANTA

TUTORA: Dra. SANDRA CRUZ, PhD.

CEVALLOS – ECUADOR

2023

CEVALLOS, 16 DE FEBRERO DEL 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

“FRECUENCIA DE *Campylobacter spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO
PROCEDENTES DE PLANTAS DE FAENAMIENTO QUE SUMINISTRAN AL
CANTÓN AMBATO.”

REVISADO POR

.....
Dra. Sandra Cruz, PhD.

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, JENIFFER VANESA TOAPANTA TOAPANTA, portador de la cédula de identidad número: 0550554158, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “FRECUENCIA DE *Campylobacter spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO PROCEDENTES DE PLANTAS DE FAENAMIENTO QUE SUMINISTRAN AL CANTÓN AMBATO” es original, auténtico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....
Jeniffer Vanesa Toapanta Toapanta

C.I. 0550554158

AUTOR

DERECHOS DEL AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “FRECUENCIA DE *Campylobacter spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO PROCEDENTES DE PLANTAS DE FAENAMIENTO QUE SUMINISTRAN AL CANTÓN AMBATO” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

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

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



.....
Jeniffer Vanesa Toapanta Toapanta

C.I. 0550554158

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“FRECUENCIA DE *Campylobacter spp* EN MUESTRAS DE CARNE DE POLLO
PROCEDENTES DE PLANTAS DE FAENAMIENTO QUE SUMINISTRAN AL
CANTÓN AMBATO”

REVISADO POR:

.....

Dra. Sandra Cruz PhD.

TUTORA

FECHA

.....

Ing. Patricio Núñez, PhD.

PRESIDENTE TRIBUNAL

16/03/2023

.....

Dr. Byron Borja

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

16/03/2023

.....

Dr. Gerardo Kelly

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

16/03/2023

DEDICATORIA

A mi mamá quien siempre me dio ánimos durante toda mi formación académica y me ha ayudado en los momentos más difíciles

A mi padre quien siempre me acompañó cuando tenía que viajar para llegar a la Universidad en la mañana.

A mi hermano que debido a sus experiencias en la Universidad me ha brindado sus conocimientos y me apoyo en todo lo que necesitaba.

A mis sobrinos que me hacían compañía mientras realizaba las tareas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por siempre brindarme fortaleza en los momentos más difíciles.

Agradezco a mis padres quienes siempre me han apoyado en todo lo que necesitaba, a mi hermano quien me brindo sus consejos oportunos.

A mis amigos de la carrera con quienes he compartido muchas experiencias tanto buenas como malas, pero siempre apoyándonos, por lo cual creamos muchos recuerdos bonitos.

También agradezco a los docentes de la Universidad Técnica de Ambato quienes me han brindado sus conocimientos y me han guiado en mi formación profesional.

Agradezco de manera especial a mi tutora de tesis la doctora Sandra Cruz quien tuvo la paciencia para guiarme durante todo el desarrollo del presente proyecto de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPITULO 1	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	3
1.2. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	7
1.2.1. <i>Reseña histórica de Campylobacter</i>	7
1.2.2. <i>Taxonomía de Campylobacter spp</i>	8
1.2.3. <i>Generalidades morfológicas y bioquímicas</i>	9
1.2.4. <i>Epidemiología</i>	10
1.2.5. <i>Distribución geográfica y reservorios</i>	11
1.2.6. <i>Modo de transmisión</i>	12
1.2.7. <i>Campylobacteriosis en el ser humano</i>	12
1.2.8. <i>Plantas de faenamiento de pollos</i>	13
1.2.9. <i>Proceso de faenamiento de aves</i>	13
1.2.10. <i>Contaminación en las plantas faenadoras</i>	15
1.3. OBJETIVOS	15
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	15
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	15
1.4. HIPÓTESIS	16
CAPÍTULO II	17
METODOLOGÍA	17
2.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	17
2.2. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR.....	18
2.3. EQUIPOS Y MATERIALES	19
2.4. FACTORES EN ESTUDIO.....	20
2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	20
2.5.1. <i>TAMAÑO DE LA MUESTRA</i>	20

2.5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	21
2.6. METODOLOGÍA.....	22
2.6.1. <i>Pre enriquecimiento</i>	22
2.6.2. <i>Campylobacter Agar Base (HIMEDIA)</i>	23
2.6.3. <i>Pruebas bioquímicas</i>	25
2.6.4. <i>Crecimiento a 42°C</i>	28
2.6.5. <i>Agar tripticasa de soya (TM Media)</i>	29
2.6.6. <i>Crio preservación</i>	30
2.6.7. <i>Identificación molecular</i>	30
2.7. VARIABLES RESPUESTA.....	35
2.8. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	39
CAPÍTULO III.....	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
3.1 IDENTIFICACIÓN DE <i>CAMPYLOBACTER SPP</i> MEDIANTE TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS.....	40
3.2. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS AISLADOS BACTERIANOS.....	45
3.3. FACTORES DE RIEGO RELACIONADOS CON LA CONTAMINACIÓN DE LA CARNE DE POLLO.....	56
CAPÍTULO IV.....	63
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	63
4.1. CONCLUSIONES.....	63
4.2. RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. TAXONOMÍA DE <i>Campylobacter spp</i>	8
TABLA 2. <i>Campylobacter spp</i> . REPORTADA EN POLLOS DE ENGORDE.....	11
TABLA 3. PROCESO DE FAENAMIENTO DE LOS POLLOS	14
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS DEL CANTÓN CEVALLOS.	18
TABLA 5. EQUIPOS Y MATERIALES.....	19
TABLA 6. CONDICIONES DEL PCR PARA UNA TAQ ADN POLIMERASA.....	32
TABLA 7. MIX DE REACCIÓN PARA UN VOLUMEN DE 25 µL.	32
TABLA 8. PRIMERS QUE SE USARÁN EN LA INVESTIGACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN MOLECULAR	33
TABLA 9. FICHA DE OBSERVACIÓN	37
TABLA 10. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE <i>Campylobacter spp</i>	41
TABLA 11. RESULTADOS OBTENIDOS DE ACUERDO A CADA PLANTA DE FAENAMIENTO	43
TABLA 12. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN MOLECULAR	46
TABLA 13. EXTENSIÓN DEL GENOMA Y GC% DE LAS BACTERIAS IDENTIFICADAS	54
TABLA 14. RESULTADOS DE LA FICHA DE OBSERVACIÓN INICIALES NO EN NÚMEROS.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESPECIES DE <i>Campylobacter spp</i>	9
FIGURA 2. MORFOLOGÍA DE <i>Campylobacter spp</i>	9
FIGURA 3. PRUEBAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS REALIZADAS.....	40
FIGURA 4. INFORMACIÓN Y SECUENCIA ENSAMBLADA DEL GENOMA DE LA ESPECIE <i>E. faecalis</i>	46
FIGURA 5. INFORMACIÓN Y SECUENCIA ENSAMBLADA DEL GENOMA DE LA ESPECIE DE LA ESPECIE <i>E. gallinarum</i>	48
FIGURA 6. INFORMACIÓN Y SECUENCIA ENSAMBLADA DEL GENOMA DE LA ESPECIE DE LA ESPECIE <i>A. veronii</i>	49
FIGURA 7. INFORMACIÓN Y SECUENCIA ENSAMBLADA DEL GENOMA DE LA ESPECIE DE LA ESPECIE <i>E. coli</i>	51
FIGURA 8. INFORMACIÓN Y SECUENCIA ENSAMBLADA DEL GENOMA DE LA ESPECIE DE LA ESPECIE <i>E. fergusonii</i>	53

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. CORTE EN LAS MUESTRAS DE CARNE DE POLLO.....	73
ANEXO 2. CRECIMIENTO POSITIVO EN EL <i>Campylobacter</i> AGAR BASE.....	73
ANEXO 3. TINCIÓN GRAM NEGATIVA.....	73
ANEXO 4. PRUEBAS CATALASAS POSITIVAS	74
ANEXO 5. PRUEBAS OXIDASAS POSITIVAS	75
ANEXO 6. REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE MOTILIDAD.....	75
ANEXO 7. COLONIAS AISLADAS EN AGAR TRIPTICASA DE SOYA.....	75
ANEXO 8. CRIOPRESERVACIÓN	76

RESUMEN

Campylobacter spp. es considerada uno de los contaminantes de la carne más importante al ser la causante de la mayoría de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) en el ser humano, su principal vía de transmisión es a través de los alimentos contaminados de origen animal. El proceso de faenamiento juega un papel muy importante en la diseminación de esta bacteria, en ese sentido las plantas faenadoras deben cumplir con todas las normas higiénico-sanitarias para evitar la presencia de *Campylobacter spp.* en la carne de pollo. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de *Campylobacter spp.*, para lo cual se recolectaron 45 muestras de 9 plantas faenadoras que suministran de carne de pollo al cantón Ambato, la identificación inicial se llevó a cabo mediante pruebas microbiológicas y bioquímicas, tales como el crecimiento a 42°C, tinción Gram, oxidasa, catalasa y motilidad, en donde se obtuvieron 14 (31,11%) candidatas a *Campylobacter spp.*, sin embargo la identificación molecular mediante la amplificación del gen 16S confirmó que las bacterias aisladas fueron: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Aeromonas veronii*, *Escherichia coli* y *Escherichia fergusonii*. Finalmente, se evaluó los factores de riesgos asociados a la contaminación de la carne de pollo de las distintas plantas de faenamiento. En conclusión, se pudo comprobar que la carne de pollo proveniente de las plantas de faenamiento en estudio contiene bacterias potencialmente patógenas para el ser humano, poniendo en gran riesgo a los consumidores quienes desarrollan signos gastrointestinales después de consumir la carne contaminada.

Palabras clave: *Campylobacter*, carne de pollo, identificación molecular, faenamiento, contaminación.

ABSTRACT

Campylobacter spp. It is considered one of the most important meat contaminants as it is the cause of most foodborne diseases (ETAs) in humans, its main route of transmission is through contaminated food of animal origin. The slaughtering process plays a very important role in the dissemination of this bacterium, in this sense the slaughtering plants must comply with all hygienic-sanitary regulations to avoid the presence of *Campylobacter spp.* in chicken meat. The objective of this study was to determine the frequency of *Campylobacter spp.*, for which 45 samples were collected from 9 slaughter plants that supply chicken meat to the Ambato canton, the initial identification was carried out through microbiological and biochemical tests, such as the growth at 42°C, Gram stain, oxidase, catalase and motility, where 14 (31.11%) candidates for *Campylobacter spp.* were obtained, however molecular identification by amplifying the 16S gene confirmed that the isolated bacteria were: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Aeromonas veronii*, *Escherichia coli*, and *Escherichia fergusonii*. Finally, the risk factors associated with the contamination of chicken meat from the different slaughter plants were evaluated. In conclusion, it was possible to verify that the chicken meat from the slaughter plants under study contains potentially pathogenic bacteria for humans, putting consumers at great risk who develop gastrointestinal signs after consuming the contaminated meat.

Keywords: *Campylobacter*, chicken meat, molecular identification, slaughter, contamination

CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

El aislamiento de *Campylobacter spp* se ha realizado con diferentes tipos de muestras, técnicas de aislamiento, medios de cultivo y lugares de estudio, de esta manera tenemos el estudio de Galárraga (2014), en el cual se tomaron 142 muestras de ciegos de pollos faenados de 5 plantas de faenamiento de la provincia de Pichincha, la siembra del microorganismo se realizó en medio mCCDA (medio agar modificado de carbón cefaperazona desoxilacolato), logrando aislar *Campylobacter spp* en 76 de las 142 muestras analizadas por lo que se concluyó que la prevalencia fue de un 53,5% en el tracto gastrointestinal.

En otro estudio realizado en Durango México por Ceniceros et al. (2016), se recolectaron 76 muestras de carne de pollo fresco y congelado de diferentes puntos de expendio del mercado de abasto, para la identificación bacteriológica se utilizó la metodología establecida por el Instituto Nacional de Salud de Colombia, cabe destacar que en esta investigación se buscaba identificar tanto *Salmonella spp* como *Campylobacter spp*. El aislamiento fue positivo para ambas bacterias, en el caso de *Salmonella spp* se logró aislar de 22 (46%) muestras de pollo congelado y de 26 (54%) muestras de pollo fresco, por lo tanto, 48 de las 76 muestras contenía esta bacteria representando una prevalencia del 63% en total. En el caso de *Campylobacter spp* se logró aislar de 28 (74%) muestras de pollo congelado y de 34 (89%) muestras de pollo fresco por lo tanto 62 de las 76 muestras estaban contaminadas con esta bacteria, representando una prevalencia del 81% siendo más común que *Salmonella spp*.

Valenzuela (2019), en su investigación usó 40 muestras de espinazo e hígado de cerdo y 20 muestras de carne de pollo la cuales se obtuvieron en distintas carnicerías de la ciudad de Valencia (España), el medio de cultivo utilizado fue agar *Campylobacter* blood-free selective agar base (Modified CCDA Preston, Oxoid CM0739) y suplementado con CCDA (CCDA selective supplement Oxoid SR 0155E) y agar Columbia enriquecido con sangre de caballo, la incubación fue a 42°C durante 48 horas, los resultados indicaron que en cuanto a las muestras de carne de cerdo solo se logró aislar *Campylobacter spp* en 1 de las 40 muestras y en la carne de pollo se aisló en 2 de las 20 muestras esto debido a que el agar se contaminó provocando el crecimiento de varias colonias dificultando la diferenciación de *Campylobacter spp* en el resto de las muestras. También se realizaron pruebas PCR múltiple al caldo de enriquecimiento en donde 3 de las 40 muestras de carne de cerdo dieron positivo, demostrando que hay una baja incidencia de esta bacteria en esta especie, por otro lado, en el caldo de enriquecimiento de la carne de pollo se obtuvieron 14 muestras positivas de 40 representando una prevalencia del 70% en donde se identificó que el 50% se contaminó con *C. jejuni* y el resto por ambas especies *C. jejuni* y *C. coli*.

En el caso de Zumbado et al. (2014), se investigó en una de las granjas más tecnificadas de Costa Rica, en donde se tomaron 40 muestras de ciegos, 20 muestras de carcasas y 24 muestras de los muslos de pollo de los PDV (Puntos De Venta), para el aislamiento se utilizó Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate-mCCDA, como resultado 44 (52,38%) de las 84 muestras fueron positivas a *Campylobacter spp*, mediante PCR se confirmó que el 81,81 % fueron positivas para *C. jejuni* y solo el 1,2% fueron positivas para *C. coli*.

Otro estudio realizado por Rojas et al. (1996), llevado a cabo en una planta de faenamiento, se recolectaron 178 muestras, de las cuales 60 se tomaron después de la evisceración, 58 luego de salir del primer tanque de enfriamiento y 58 al finalizar el proceso de faenamiento, para el aislamiento se usaron agar Blasser y agar sangre. Se logró aislar *Campylobacter spp* de 44 (73,3%) de las 60 muestras tomadas después de la evisceración, sin embargo, no se logró aislar del resto de las muestras tomadas en las otras

etapas del proceso, por lo cual el autor concluyó que se debería mejorar el proceso de evisceración para evitar la contaminación cruzada de la carne con las vísceras de animal.

López (2004), llevó a cabo una investigación en la ciudad de San Luis Potosí en México, este estudio abarcó muestras de 29 199 niños de entre 3 a 7 años de edad, 124 muestras de personas con diarrea y 168 muestras de carne de res, pollo y cerdo de 105 carnicerías, en el aislamiento se utilizó agar Cefex, como resultado se encontró de las muestras de los niños solo 2 positivas para *Campylobacter spp* representando un 1,2%; de los pacientes con diarrea se obtuvo 5 aislamientos positivos de las 124 muestras representando un 4%. En cuanto a las muestras de carne los aislamientos positivos fueron 27 de 168 de los cuales el 41% representa a la carne de pollo, el 5,3% a la carne de res y el 1,8% a la carne de cerdo, demostrando que la carne de pollo es la más susceptible a contaminarse con *Campylobacter spp*.

En la investigación realizada por Giacoboni et al. (2002), en una granja ubicada en la localidad de Pilar provincia de Buenos Aires, en donde observó todo el proceso de producción de carne del pollo campero, además recolectó muestras de heces fecales realizando hisopados, adicionalmente se obtuvieron 10 muestras de pollos enteros al terminar el proceso de faenamiento, en el aislamiento se usó agar Skirrow, se dejó incubar a 42°C por 48 horas. En los hisopados cloacales la presencia de *Campylobacter spp* fue del 94% en las 50 muestras obtenidas de la etapa de recría, 30% en la etapa de terminación y en la carne de pollo se obtuvo un 60% de prevalencia de *Campylobacter spp* según los autores este alto porcentaje en el producto final se debe al proceso de faenamiento siendo el punto crítico de contaminación el eviscerado.

En otro estudio efectuado por Giacoboni, Puchuri, & Cerdá (1999), en diferentes comercios de la ciudad de Plata Argentina se tomaron 120 muestras de menudo y carcasas de 4 lugares que comercializaban carne de pollo, para el aislamiento se usó agar Skirrow, se encontró *Campylobacter spp* en 43 (35,8%) de las 120 muestras de las cuales mediante

pruebas bioquímicas se comprobó que 42 (35%) fueron positivas a *C. jejuni* y solo una muestra (0,8%) fue positiva para *C. coli*.

Por su parte Torralbo (2013), realizó un estudio en granjas de pollos broilers en 8 provincias de Andalucía (España), el autor separó su estudio en dos partes, en la primera parte determinó la contaminación en las distintas zonas del matadero para lo cual tomó las muestras durante el sacrificio y del procesado al final de la jornada realizado en 15 días distintos, en la segunda parte determinó la frecuencia de contaminación a lo largo del faenamiento para lo cual tomó una muestra antes del sacrificio, durante y después de los distintos lotes que se realicen en un día, esto se realizó durante tres días. En total se obtuvieron 291 muestras de 124 granjas, se hicieron 2 221 hisopados cloacales y 747 muestras ambientales. En esta investigación también se identifica la presencia de esta bacteria en perros domésticos, para lo cual se tomaron 306 muestras rectales. En el laboratorio para el aislamiento se utilizó agar para *Campylobacter* exento de sangre (*Campylobacter* Free Blood Agar, Oxoid®) utilizándose el suplemento CCDA modificado (cefoperazona y anfotericina B, Oxoid®) en el caso de las muestras de broiles y para las muestras de los perros se utilizó el suplemento CAT (cefoperazona, anfotericina B y teicoplanina, Oxoid®), la incubación se efectuó a 42°C por 48 horas. En los resultados se obtuvo que 846 muestras cloacales fueron positivas para *Campylobacter spp.* En cuanto a las muestras obtenidas en las granjas, 183 de 291 resultaron positivas representando una prevalencia del 62,9%. En cuanto a las muestras ambientales 66 muestras resultaron positivas. Por otra parte, en el estudio de los perros, 102 muestras (35,2%) de 306 resultaron positivas. El autor destaca que es de gran importancia conocer la prevalencia de *Campylobacter spp.* en ambas especies animales, ya que esta bacteria puede causar zoonosis y ser un problema para la salud pública, para lo cual podemos establecer estrategias de control reduciendo así la presencia de *Campylobacter spp.*

En la investigación realizada por Poma (2014), se estudiaron 6 camales industrializados de la provincia de Pichincha en el cual se recolectaron 189 muestras, para el aislamiento se utilizó el medio mCCDA y se confirmó mediante Tinción Gram, cabe destacar que se eliminaron 8 muestras por problemas técnicos, por lo cual se obtuvieron 130 (71,8%)

muestras positivas de 181, al realizar PCR múltiple se identificó que 88 fueron *C. coli* (67,69%), 23 *C. jejuni* (17,69%), 18 fueron aislamiento mixto de *C. coli* y *C. jejuni* (13,85%).

1.2. Categorías fundamentales

1.2.1. Reseña histórica de *Campylobacter*

Esta bacteria fue descrita por primera vez en el año 1886 por Theodore Escherich que fue un gran pediatra y bacteriólogo de la época, al cual también se le atribuye el descubrimiento de la *Escherichia coli* en 1919, este investigador caracterizó a la *Campylobacter spp* como una bacteria curva o en forma de espirilo, la aisló del colon de niños que fallecieron con lo que él denominó “cólera infantil”, sin embargo, él no la consideró el patógeno causante de la enfermedad (García, 2020). Los médicos veterinarios Mcfaydean y Stockman en 1909 reportaron una bacteria móvil y con forma de espirilo presente en los fluidos vaginales y fetales de fetos abortados, más adelante en 1919 Smith y Taylor aislaron un microorganismo similar presente en fetos abortados al compararlos con los estudios de Mcfaydean y Stockman concluyeron que se trataba del mismo, así que lo denominaron “*Vibrio fetus*”. Posteriormente, en 1931 Jones aisló una bacteria similar en bovinos con problemas intestinales, pero se diferenciaba serológicamente de la bacteria ya descrita por lo cual la nombró “*Vibrio jejuni*”, más adelante la “*Vibrio coli*” fue descrita por Doyle en 1944 y la obtuvo de las muestras de un cerdo con disentería (Rojas et al., 1996). En 1947 se encontró por primera vez una bacteria similar en humanos de las muestras de un aborto séptico y se la denominó “*Vibrio fetus*”. Fue en 1963 cuando surgió el término *Campylobacter* de la mano de Sebald y Véron para nombrar a todos estos bacilos delgados y curvos, características por las cuales se les nombró de esa manera ya que el término *Campylobacter* proviene de las palabras griegas «kampylos» que significa curva y de «baktron» que es varilla (Dota, 2017). Después del primer aislamiento de la bacteria en seres humanos se comenzó a crear nuevas técnicas para identificarla Dekeyser y Butzler en 1969 lograron aislarla a partir de

muestras fecales dando a conocer que la colonización bacteriana inicia en el sistema gastrointestinal (López, 2004). Basándose en los resultados de todas las investigaciones se empezó a considerar a la *Campylobacter spp* como una de las bacterias más comunes en causar enfermedades diarreicas por el consumo de alimento contaminado (Galárraga, 2014).

1.2.2. Taxonomía de *Campylobacter spp*

En la actualidad *Campylobacter spp.* comprende 17 especies y 6 subespecies, de estas destacan *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* debido a que se encuentran en gran cantidad en los alimentos (Dota, 2017), en la Tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica.

Tabla 1. Taxonomía de *Campylobacter spp*

Dominio	Bacteria
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Epsilonproteobacteria</i>
Orden	<i>Campylobacterales</i>
Familia	<i>Campylobacteraceae</i>
Género	<i>Campylobacter</i>

Fuente: (Forbes, Sahn, & Weissfeld, 2009)

Figura 1. Especies de *Campylobacter spp*

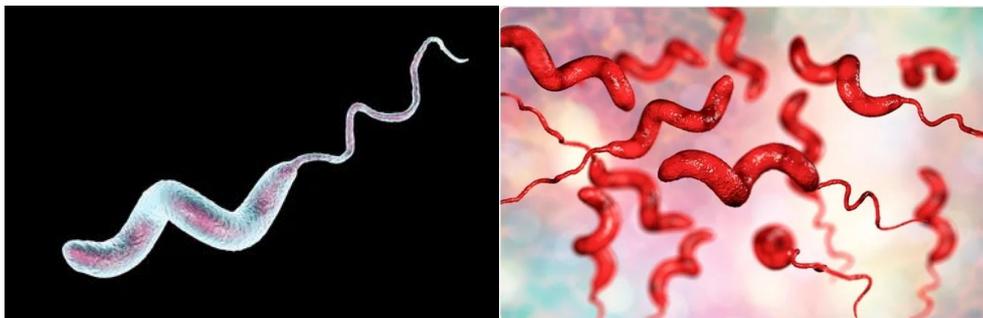
Microorganismo	Fuente	Espectro de enfermedades en los seres humanos
<i>C. concisus</i> , <i>C. curvus</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. showae</i>	Seres humanos	Enfermedad periodontal; gastroenteritis.
<i>C. gracili</i>	Seres humanos	Infecciones de los tejidos profundos de la cabeza, cuello y las vísceras: surcos gingivales
<i>C. coli</i>	Cerdos, aves de corral, ovejas, toros, pájaros	Gastroenteritis,* septicemia
<i>C. jejuni subesp. jejuni</i>	Aves de corral, toros, perros, gatos, pájaros y otros animales	Gastroenteritis,* septicemia, meningitis; proctitis
<i>C. jejuni subesp. doylei</i>	Seres humanos	Gastroenteritis,* septicemia
<i>C. lari</i>	Pájaros, aves de corral, otros animales; agua de ríos y mares	Gastroenteritis,* septicemia; infección de prótesis articulares
<i>C. hyointestinalis subesp. hyointestinalis</i>	Cerdos, vacas, hamsters, ciervos	Gastroenteritis
<i>C. upsaliensis</i>	Perros, gatos	Gastroenteritis; septicemia, abscesos
<i>C. fetus subesp. Fetus</i>	Vacas, ovejas	Septicemia, gastroenteritis; aborto; meningitis
<i>C. fetus subesp. venerealis</i>	Vacas	Septicemia
<i>C. sputorum biovar. Spoutorum</i>	Seres humanos, vacas, cerdos	Abscesos, gastroenteritis

*Forma clínica más común

Fuente: (Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2009)

1.2.3. Generalidades morfológicas y bioquímicas

Figura 2. Morfología de *Campylobacter spp*



Esta bacteria es un bacilo curvo pequeño pudiendo medir de 0,2 a 0,9 μm de ancho y de 0,2 a 5,0 μm de largo, a nivel de laboratorio son muy difíciles de aislar porque necesitan de un ambiente sumamente controlado con una atmosfera microaerofílica (5% de oxígeno, 10% de dióxido de carbono y 85 de nitrógeno), además de requerir de un medio altamente selectivo que ayuden a inhibir el resto de bacterias y aumenten el crecimiento de *Campylobacter*, estos medios de cultivo por lo general contienen antibiótico o se les adiciona antibióticos para asegurar el crecimiento de la bacteria, entre los más utilizados tenemos el Agar Preston, Agar Skirrow, el mCCDA, Agar Karmali y el Campy-Cefex (Giacoboni et al., 2002).

Es importante mencionar que *C. jejuni* y *C. coli* crecen a 42°C en 48 horas lo que las diferencia del resto de bacterias que son más sensibles a temperaturas muy altas, para su identificación en primera instancia se deben observar las colonias las cuales son no hemolíticas, grises, con bordes irregulares y de superficie brillante, a las pruebas bioquímicas *Campylobacter spp* se caracteriza por ser catalasa positiva, oxidasa positiva, Gram negativa y al microscopio se observan bacilos en forma curva o en forma de S, esto debido a los flagelos que posee los cuales le otorgan motilidad usualmente similar a un sacacorchos, destacando que para la prueba de motilidad se debe usar un microscopio de contraste de fases o de campo oscuro (García, 2020). Cabe destacar que la mayoría de los aislamientos exitosos provienen de muestras de heces, el aislamiento de muestras provenientes de alimentos se requiere la utilización de un método de pre enriquecimiento en la incubadora a 37°C que ayude a revitalizar a la bacteria, sin embargo, esto puede afectar un poco los resultados (Rojas et al, 1996).

1.2.4. Epidemiología

Esta bacteria está presente generalmente en animales de sangre caliente, además de tener alta prevalencia en aquellos destinados para el consumo humano, tales como las aves de corral, bovinos, porcinos, ovinos, avestruces y mariscos; incluso puede estar presente en

los animales de compañía (perros y gatos), en todas estas especies *Campylobacter spp.* existe como organismo comensal en el sistema gastrointestinal (Dota, 2017).

De acuerdo a los estudios epidemiológicos, el consumo de carne no bien cocida (ave), consumo de leche no pasteurizada y el consumo de agua contaminada provocan las infecciones por *Campylobacter spp.* en el ser humano, por lo tanto, es esencial que el lavado de manos sea frecuente cuando estemos en contacto con animales enfermos y la manipulación de los alimentos de origen animal se realice adecuadamente (Gutiérrez, 2004).

1.2.5. Distribución geográfica y reservorios

Campylobacteriosis es una de las enfermedades gastrointestinales más frecuentes en el mundo, la mayoría de las infecciones se producen por las cepas *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* (Poma , 2014). En la Tabla 2 se muestran los porcentajes de casos de infección por *Campylobacter* reportados en pollos de engorde.

Tabla 2. *Campylobacter spp.* reportada en pollos de engorde

<i>Campylobacter</i> reportada en parvadas de pollos de engorde a través de los años	
Países (Unión Europea)	Porcentaje de infección
Eslovenia	63,4%
Hungría	83,6%
Finlandia	1.6%
España	62.1%
Alemania	9.2%

Fuente: (Poma, 2014)

El reservorio principal de *Campylobacter spp.* es el tracto gastrointestinal de los mamíferos tanto salvajes, como domésticos. También está presente en las heces en donde puede permanecer de 3 a 4 semanas a 4°C, en el agua puede estar por 4 semanas y en la orina de animales infectados puede permanecer 5 semanas (Paguanquiza, 2016)

1.2.6. Modo de transmisión

En las avícolas la diseminación de *Campylobacter spp.* se debe a un mal control higiénico-sanitario de las granjas, como por ejemplo ofrecer agua no tratada a las aves, la presencia de aves silvestres, escaso mantenimiento a la maquinaria, existen otras especies animales en la granja, entre otros, que actúan como diseminadores de la bacteria de un ave a otra provocándose la transmisión horizontal (Gutiérrez , 2004).

No existen pruebas lo suficientemente claras que verifiquen la existencia de la transmisión vertical. Cabe destacar que la carne de pollo se contamina en el proceso de faenamiento especialmente en la etapa de evisceración, según Poma (2014), los camales de bovino y porcino son mucho más regulados en cuanto a su higiene y sanidad por lo que *Campylobacter spp.* se ha identificado con mayor frecuencia en carne de pollo, cerca del 50% al 80% de las infecciones causadas a humanos se asocian al consumo de carne de pollo contaminada cruda o mal cocinada. Las personas también pueden desarrollar campilobacteriosis al consumir leche no pasteurizada, beber agua contaminada o al entrar en contacto con contenido fecal de perros o gatos infectados (Dota, 2017)

1.2.7. Campylobacteriosis en el ser humano

Campylobacter spp. una vez que entra en el organismo se ubica en el intestino grueso específicamente en el colon, tiene un periodo de incubación de 1 a 7 días, y los síntomas más comunes en una persona infectada son diarrea acuosa sanguinolenta, fiebre, dolor

abdominal, náuseas y vómitos. Es importante mencionar que las personas generalmente se recuperan en 2 a 5 días, aunque hay ocasiones que tardan 10 días en recuperarse. Existen casos especiales en donde las personas con campilobacteriosis desarrollan el Síndrome de Guillain-Barré (1 de cada 1000 casos), otras presentan artritis reactiva y algunas personas presentan síndrome del intestino irritable 1 o 2 años después de su recuperación (Poma , 2014)

1.2.8. Plantas de faenamiento de pollos

El principal objetivo de las plantas de faenamiento es la obtención de carne de pollo de la mejor calidad para el consumo humano, para este fin se requiere de una buena optimización de la cadena productiva sumada a instalaciones adecuadas, siempre garantizando la bioseguridad tanto del personal como del producto final (Decap, 2008).

Todo el personal encargado de las distintas etapas del faenamiento de las aves debe estar capacitado y estar conscientes que cualquier error disminuye contamina y disminuye la calidad de la carne de pollo, atentando contra la salud pública como lo demostró un estudio en donde el 50% de los brotes infecciosos por alimentos se debía al consumo de carne. Es importante mencionar que la producción de carne de pollo y su calidad final dependen en conjunto del manejo de la granja, la faenadoras y los puntos de venta (Decap, 2008).

1.2.9. Proceso de faenamiento de aves

En la Tabla 3 se describe todas las etapas del faenamiento de las aves.

Tabla 3. Proceso de faenamiento de los pollos

PROCESO	DESCRIPCIÓN
Insensibilización o aturdimiento	<ul style="list-style-type: none"> • Se comienza con el noqueo de las aves para esto generalmente se utiliza agua con corriente eléctrica.
Sangrado	<ul style="list-style-type: none"> • Colocar en un cono el ave noqueada con el fin de quitarle la movilidad. • Con cuchillos limpios y desinfectados (agua clorada) se procede al corte de grandes vasos del cuello, produciendo el desangrado total.
Escaldado	<ul style="list-style-type: none"> • Luego del correcto desangrado (en no menos de 3min) sumergir el ave en agua caliente (50 – 60° C), durante 3 minutos.
Desplume	<ul style="list-style-type: none"> • La extracción de plumas del ave se pueden realizar de forma manual y automática
Duchado	<ul style="list-style-type: none"> • Se ducha al ave con agua
Corte de patas	<ul style="list-style-type: none"> • Una vez peladas y duchadas las aves, las patas deberán ser separadas por sección, a la altura del talón
Eviscerado	<ul style="list-style-type: none"> • Se deberá retirar las vísceras contenidas en el abdomen, evitando la ruptura del aparato digestivo
Enfriado	<ul style="list-style-type: none"> • Una vez la carcasa este eviscerada, desinfectada y escurrida, se debe asegurar el descenso de la temperatura de la misma a no más de 7 °C en no más de 90 minutos.
Residuos	<ul style="list-style-type: none"> • Los residuos deben ser eliminados inmediatamente luego de terminado el proceso
Manipulación más segura de la carne de pollo	<ul style="list-style-type: none"> • La carne de pollo puede contener diversos microorganismos patógenos, como <i>Campylobacter spp</i>
Embolsado y mantenimiento en frío hasta el consumo	<ul style="list-style-type: none"> • Debe realizarse una vez que la carcasa llegó a 7 °C como máximo, la misma se embolsa y se mantiene en refrigeración hasta ser consumido
Registros	<ul style="list-style-type: none"> • Los productores/as deberán diseñar y mantener toda la documentación relacionada

Fuente: (Galárraga, 2014)

1.2.10. Contaminación en las plantas faenadoras

En las plantas faenadoras de gran escala y altamente tecnificadas se ha encontrado presencia de *C. jejuni* esto debido a varios factores tanto internos como externos a la planta de faenamiento, a nivel de granja tenemos la producción intensiva y el estrés que provoca el transporte hacia los camales, además de usar jaulas contaminadas, a nivel del matadero puede llevarse a cabo un proceso de faenamiento inadecuado, deficiente control de temperatura del agua, maquinaria deficiente y escaso mantenimiento de la misma, todos estos factores pueden ayudar a la diseminación de la bacteria (Dota, 2017).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la frecuencia de *Campylobacter spp* en muestras de carne de pollo procedentes de plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato.

1.3.2. Objetivos específicos

- Identificar *Campylobacter spp* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas en muestras de carne de pollo procedentes de plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato.
- Identificar molecularmente el aislado bacteriano con características morfológicas y bioquímicas de *Campylobacter spp*
- Evaluar el comportamiento epidemiológico de la presencia de *Campylobacter spp* en la carne de pollo procedente de plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato.

1.4. Hipótesis

H0: En las distintas plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato no existe contaminación de la carne de pollo con *Campylobacter spp.*

H1: En las distintas plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato existe contaminación de la carne de pollo con *Campylobacter spp.*

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios de microbiología y biología molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en la provincia de Tungurahua específicamente en el cantón Cevallos.

Las muestras se recolectaron de nueve plantas de faenamiento distribuidas en los diferentes cantones de la provincia de Tungurahua a continuación en la Tabla 4 se describen sus ubicaciones.

Tabla 4. Ubicación de las plantas de faenamiento en estudio

Plantas de faenamiento	Cantón	Dirección
Plantas de faenamiento 1	Pelileo	Barrio Bellavista
Plantas de faenamiento 2	Pelileo	C/ Jorge Chacón y Pasaje Sector el Corte
Plantas de faenamiento 3	Baños de Agua Santa	Av. Amazonas
Plantas de faenamiento 4	Ambato	Av. Bolivariana y Pitágoras
Plantas de faenamiento 5	Ambato	Tomás Sevilla 820 y Darquea,
Plantas de faenamiento 6	Ambato	Barrio el Cisne

Plantas de faenamiento 7	Ambato	Parque Industrial, Av.IV y D
Plantas de faenamiento 8	Patate	Barrio la Esperanza
Plantas de faenamiento 9	Píllaro	Av. vei E

2.2.Características del lugar

El laboratorio como se mencionó está ubicado en el cantón Cevallos cuya extensión es de 19,00 km², su altitud es de 2.882 msnm y sus coordenadas geográficas son latitud 1°22'08.7'' y longitud 78° 36'23.8'', en la Tabla 5 se describen más características de esta ciudad.

Tabla 5. Características del Cantón Cevallos.

Parámetro	Valor
Clima	Ecuatorial Meso Térmico Seco
Temperatura media promedio, °C	13 a 16
Humedad relativa, %	60 – 75
Velocidad del viento, m/s	2.1 – 8.9
Precipitación, mm	200 – 500

Fuente: (GAD Cevallos, 2011)

2.3. Equipos y materiales

Tabla 6. Equipos y materiales

Materiales de campo	
<ul style="list-style-type: none"> • Overol • Botas • Jeringas de 20ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Bolsas de sangre • Algodón • Cooler termo hielera
Materiales de laboratorio	
<ul style="list-style-type: none"> • Cajas Petri • Gradillas • Tubos de ensayo • Cucharas de medición • Varilla de agitación • Vasos de precipitación • Papel de Aluminio • Micropipeta • Puntas de micropipeta • Guantes de látex • Tubos Eppendorf 	<ul style="list-style-type: none"> • Asas de siembra • Portaobjetos • Mascarilla • Cofia • Bata quirúrgica • Zapatones • Papel kraft • Mecheros bunsen • Cintas testigo • Bolsas ziploc • Matraz Erlenmeyer
Reactivos	
<ul style="list-style-type: none"> • Agua peptonada • Agar tripticasa de soya • <i>Campylobacter</i> agar base • Tiras reactivas de oxidasa • Alcohol 	<ul style="list-style-type: none"> • Glicerol (Dilución 15%) <ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Peróxido de hidrógeno • Kit de tinción Gram
Equipos	
<ul style="list-style-type: none"> • Balanza Analítica • Autoclave • Incubadora • Microscopio con contraste de fase 	<ul style="list-style-type: none"> • Agitador magnético con plancha de calentamiento • Nevera • Baño María
Insumos de Oficina	
<ul style="list-style-type: none"> • Computadora • Esferos • Cinta adhesiva • Impresora 	<ul style="list-style-type: none"> • Cámara fotográfica • Cuaderno de apuntes • Rotulador
Extracción de ADN bacteriano	
Reactivos <ul style="list-style-type: none"> • β – mercaptoetanol • Etanol absoluto • Cloroformo • Agua ultrapura • Buffer de extracción 	Equipos <ul style="list-style-type: none"> • Centrífuga • Congelador • Micropipetas

<ul style="list-style-type: none"> • Acetato de sodio 3M [246.102 g/L] 	
PCR Convencional con Base a un Master Mix	
Reactivos <ul style="list-style-type: none"> • ADN [10 – 250 ng] • GoTaq Green Mater mix 2X • Agua de PCR (libre de nucleasas) • Primer forward (10µM) • Primer reverse (10µM) 	Equipos <ul style="list-style-type: none"> • Termociclador • Micropipetas
Electroforesis Horizontal en Gel de Agarosa	
Reactivos <ul style="list-style-type: none"> • Muestra de ADN • Colorante de carga • Solución para 1L de solución madre de TBE 5X 	Equipos <ul style="list-style-type: none"> • Cámara de electroforesis horizontal (positivo negro; negativo rojo) • Micropipetas • Microondas • Balanza analítica • Fuente de poder

2.4. Factores en estudio

Identificación de *Campylobacter spp* en muestras de carne de pollo procedentes de plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato a través del uso de técnicas microbiológicas e identificación molecular.

2.5. Análisis estadístico

2.5.1. Tamaño de la muestra

Se recolectaron 45 muestras de 9 plantas de faenamiento tomando 5 muestras de cada planta de faenamiento, el muestreo se realizó en tres semanas, el tamaño de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Nota. Donde n es el tamaño de la muestra, N es el tamaño de la población, Z_{α} es el nivel de confianza que tiene un valor de 1.96; p es la probabilidad de que el estudio sea favorable 5%; q es la probabilidad de que el estudio no sea favorable 1-p; y d es la precisión 5%.

Aplicación de la fórmula

$$n = \frac{82 * (1.96)^2 * 0.05 * (1 - 0.05)}{(0.05^2) * (82 - 1) + (1.96)^2 * 0.05 * (1 - 0.05)}$$

$$n = 38.86$$

2.5.2. Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño completamente al azar, cabe destacar que las condiciones del estudio fueron estrictas sin existir variaciones. El nivel de significancia fue del 95%. Debido a que las variables no tuvieron una distribución normal, ni homogeneidad de varianza se procedió a determinar la relación de las variables evaluadas a través de la ficha de observación utilizando la prueba estadística Gamma.

2.6. Metodología

Se obtuvieron 45 muestras de distintas plantas de faenamiento de pollos que suministran al cantón Ambato repartidas a 15 muestras semanales, una vez obtenida la muestra esta se envolvió en papel aluminio y se guardó en bolsas ziploc, posteriormente se colocó en un cooler para mantener la muestra a una temperatura adecuada (0-4°C) hasta su posterior procesamiento en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

2.6.1. Pre enriquecimiento

Este proceso se realizó para ayudar al crecimiento del organismo y restaurar los daños que sufrieron durante el transporte, de tal manera que se incremente el porcentaje de aislamiento bacteriano. Para este fin se utilizó agua peptonada tamponada de TM media, este es un medio de enriquecimiento no selectivo en donde las bacterias reciben los nutrientes necesarios para desarrollarse a través de la peptona que funciona como fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, sumado a esto el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico y los fosfatos amortiguan el medio (Novachem, 2022).

Preparación del agua peptonada tamponada (TM media)

1. Para comenzar se esterilizó los materiales de laboratorio necesarios para la preparación en la estufa a 120°C por 20 minutos.
2. Una vez que todo se encontraba estéril se pesó 20 gr del producto en la balanza analítica.
3. Luego se colocó en 1000 ml de agua destilada previamente esterilizada en un vaso de precipitación.

4. Para que la mezcla quede homogénea se utilizó el agitador magnético durante 10 minutos.
5. Se trasvasó el agua peptonada a un frasco de vidrio, el cual se conservó a 4°C en la refrigeradora hasta su posterior utilización, cabe destacar que se colocó papel film para asegurar la tapa y evitar que el contenido se contamine.
6. El día que se utilizó el agua peptonada esta se sacó de refrigeración, se le quitó el papel film, y se esterilizó en el autoclave a 121°C por 15 minutos.
7. Finalmente se colocó en el baño María a 55 °C por 30 minutos.

(Novachem, 2022)

Pre enriquecimiento de la muestra.

1. Una vez llevada la muestra al laboratorio se utilizó un bisturí número 22 para realizar cortes en la carne de pollo y se obtuvo 20 gr de la muestra.
2. Por otro lado, en una probeta estéril se midió 225 ml de agua peptonada tamponada que se trasvasó a un matraz Erlenmeyer en donde se colocó la muestra antes obtenida.
3. Se agitó suavemente y se colocó un tapón en el matraz, se dejó reposar aproximadamente una hora.
4. Finalmente se colocó en la incubadora por 24 horas a 37°C

2.6.2. *Campylobacter* Agar Base (HIMEDIA)

Es un agar selectivo que ayuda al aislamiento de bacterias del género *Campylobacter* especialmente *C.jejuni* y *C. coli*. está compuesto por peptona proteasa, extracto de levadura y cloruro de sodio, sumado a esto se le añade el suplemento III skirrow que contiene antibióticos tales como la polomixina B, vancomicina y el trimetropim que ayudan a inhibir el crecimiento de otras bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas facilitando la identificación de *Campylobacter spp.* El cloruro de sodio ayuda al transporte y al equilibrio osmótico (HIMEDIA, 2022)

Preparación

1. Se esterilizó los materiales necesarios para la preparación incluida el agua destilada.
2. Se pesó 19,75 gramos del producto para colocarlos en 500 ml de agua destilada.
3. Con el agitador magnético se realizó la mezcla hasta que llegue a su punto de ebullición, esto se realizó en los siguientes tiempos se mezcló durante 10 minutos, se dejó reposar por 10 minutos, se volvió a agitar esta vez acompañado con calor comenzando en 120°C y la temperatura se subía cada 5 minutos hasta que llegue al punto de ebullición.
4. Se trasvasó el agar ya preparado en un frasco de vidrio.
5. A continuación, se llevó al autoclave por 15 min a 121°C.
6. Se colocó en el baño María a 50°C.
7. A este agar también se le colocó 5% de sangre estéril de oveja.
8. Se añadió un vial del suplemento III-Skirrow (HIMEDIA) previamente preparado con 2 ml de agua destilada.
9. Se agitó suavemente para homogenizar la mezcla.
10. Finalmente, se colocó en cajas Petri de vidrio estériles, las cuales se dejaron al ambiente por 24 horas, una vez transcurrido el tiempo se almacenaron a -4°C hasta que se realice la siembra.

(HIMEDIA, 2022).

Siembra

1. Para esto se sacó de la incubadora las muestras y se ordenó de acuerdo a la numeración establecida.
2. Se esterilizó las puntas de micropipeta y los tubos eppendorf en el autoclave.
3. Con la micropipeta se tomó 100 µL de agua peptonada del pre enriquecimiento.
4. Se colocó la gota en las cajas Petri ya preparadas y rotuladas, se dejó secar la gota, cabe destacar que se realizó un duplicado de cada muestra realizando en total 30 muestras por semana.

5. Una vez seca la gota se llevó a cabo la siembra con la técnica de siembra de estrías por agotamiento.
6. Finalmente, se llevó a la incubadora a 42°C por 48 horas.
7. A las 24 horas se supervisó si existió crecimiento bacteriano en las diferentes placas.

2.6.3. Pruebas bioquímicas

Tinción Gram

Es la prueba más utilizada en microbiología debido a que es relativamente sencilla y rápida de realizar, esta prueba nos ayuda a diferenciar las bacterias Gram negativas de las Gram positivas de acuerdo a la coloración que adquieren al realizar la tinción. El color que adquieren las bacterias se debe principalmente a la composición química de la pared celular, en el caso de las Gram positivas estas se tiñen de una coloración púrpura y poseen una capa gruesa de peptidoglicano (20-80nm), mientras que las Gram negativas tienen una fina capa de peptidoglicano (2nm) y una capa más externa de lipopolisacáridos, lipoproteínas y lípidos, estas se tiñen de color rosáceo o rojo. Para realizar la tinción se necesitan cuatro soluciones: cristal violeta, lugol, alcohol-acetona y safranina (López, Hernández, & Colín, 2014).

Procedimiento

1. Primeramente, se observó el crecimiento de colonias en las cajas Petri anteriormente sembradas.
2. Para la realización de la tinción primero se esterilizó el mesón a utilizar y se encendieron mecheros Bunsen para crear un ambiente estéril.

3. Seguidamente se procedió a abrir la placa y con la ayuda de un asa de siembra se tomó una colonia aislada para realizar un frotis bacteriano en un portaobjetos en donde se colocó previamente una gota de agua destilada.
4. Se dejó secar la gota completamente.
5. Luego se realizó la tinción con cristal violeta y se dejó actuar por 1 minuto, luego se tiró el exceso y se lavó con agua destilada
6. Se añadió lugol dejándolo actuar por un minuto y se lavó nuevamente.
7. Se decoloró con alcohol-cetona, se lavó luego de 10 segundos.
8. Se colocó el colorante de contraste safranina, dejándolo actuar por 1 minuto y se lavó por última vez.
9. Finalmente, se dejó secar el portaobjetos completamente, luego se procedió a observar en el microscopio con el lente de 100x colocando una gota de aceite de inmersión en cada placa.

(López, Hernández, & Colín, 2014).

Motilidad o movilidad bacteriana

Cabe destacar que existe un gran número de bacterias que se desplazan con la ayuda de un flagelo, este en algunas ocasiones llega a rotar provocando que el movimiento cambie la dirección del movimiento pudiendo ser lineal o mostrando volteretas (Carvajal, 2020).

Procedimiento

1. Para esta prueba se necesitó de agua peptonada, la cual se colocó en tubos de ensayo aproximadamente 5ml.
2. Con la ayuda del asa circular se tomó una colonia de las placas seleccionadas para realizar movilidad
3. Se realizó movimientos circulares para mezclar la bacteria con el agua peptonada
4. Se dejó incubar a 37°C por 24 horas

5. Una vez culminado el tiempo de incubación, con la ayuda de una pipeta Pasteur se colocó una gota del cultivo en un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos.
6. Finalmente se observó si existe movimiento con la ayuda de un microscopio de contraste de fases.

(Carvajal, 2020).

Oxidasa

Esta prueba nos ayuda a determinar la presencia de enzimas oxidasas, la reacción se produce por la presencia de citocromooxidasa que produce la oxidación del citocromo este es reducido por el oxígeno molecular, frecuentemente este sistema citocromooxidasa solo está en bacterias aerobias y algunas anaerobias facultativas. Para realizar esta prueba se necesita un papel impregnado con amino-N-dimetil-anilina que se oxida por la citocromooxidasa (Fernández et al., 2010).

Procedimiento

1. Se encendió el mechero Bunsen para tener un ambiente estéril
2. A continuación, con unas pinzas se tomó una tira reactiva.
3. Con un asa de siembra recta se tomó una colonia bacteriana aislada de la caja Petri.
4. Se frotó la bacteria en la tira reactiva y se observó si existe cambio de coloración, cabe destacar que la reacción sucede en un lapso de 5 a 10 segundos.
5. Se anotó el resultado, cabe destacar que la prueba es positiva cuando la tira se torna de color azul o violeta y negativo cuando no exista cambio de coloración.

(Fernández et al., 2010).

Catalasa

La catalasa es una enzima que se encuentra generalmente en las bacterias que poseen citocromo, con esta prueba se comprueba si existe dicha enzima. Cuando las bacterias sintetizan catalasa hidrolizan peróxido de hidrogeno en agua y oxigeno formando burbujas, por lo cual para realizar esta prueba se requiere de agua oxigenada (Fernández et al., 2010).

Procedimiento

1. Se creó un ambiente estéril con la ayuda de los mecheros bunsen
2. En un portaobjetos se colocó una gota de peróxido de hidrógeno con una pipeta Pasteur.
3. Con un asa de siembra recta se tomó una colonia bacteriana.
4. Seguidamente se colocó la bacteria en el agua oxigenada y se observó la reacción que se debe dar máximo en 10 segundos.
5. Se anotó el resultado positivo cuando se formaron burbujas y negativo cuando no existió ningún tipo de reacción.

(Fernández et al., 2010).

2.6.4. Crecimiento a 42°C

Es importante mencionar que *Campylobacter spp* es una bacteria de crecimiento bastante lento en algunas investigaciones realizadas se desarrolló después de 96 horas de incubación, sin embargo, este tiempo depende de la especie, también son muy sensibles al oxígeno y a los radicales libres por lo cual necesita de un ambiente microaerófilo, la mayoría de especies son termotolerantes por lo que crecen a una temperatura de 42°C, especialmente la *C. jejuni* y la *C.coli*, esta característica hace que se distingan de algunas especies como por ejemplo la *C. fetus* que no puede tolerar esas altas temperaturas y crece por debajo de 30°C (Ugarte, 2015).

Para poder aislar *Campylobacter spp* la incubadora se mantuvo en una temperatura de 42°C para evitar el crecimiento de otras bacterias, además se usó agar selectivo y

suplemento III-Skirrow lo que ayudó a crear un ambiente adecuado para el crecimiento de esta bacteria.

2.6.5. Agar tripticasa de soya (TM Media)

Este agar es de gran utilidad para el enriquecimiento y crecimiento de microorganismos difíciles de aislar, especialmente para bacterias anaerobias, se puede usar con o sin sangre (TMMedia, 2014).

Preparación según el fabricante (TM media)

1. Inicialmente se esterilizó todos los materiales necesarios para realizar la preparación de este medio de cultivo.
2. A continuación, se pesó 40 mg de producto, que se disolvió en 1000 ml de agua destilada en un vaso de precipitación.
3. Con la ayuda del agitador magnético se homogenizará la mezcla hasta que llegue a su punto de ebullición.
4. Se trasvaso a un frasco de vidrio.
5. Se esterilizó en el autoclave a 121°C por 15 minutos.
6. Se llevó a baño María para atemperar a 50 °C
7. Finalmente, se colocó la mezcla en cajas Petri estériles, que se conservaran en la nevera hasta que se realice la siembra.

(TMMedia, 2014).

Siembra

1. Se preparó un ambiente completamente estéril, encendiendo mecheros bunsen en el área donde se realizó la siembra.

2. Luego se tomó con la ayuda de un asa circular las colonias que se iban a repicar
3. Se sembró utilizando la técnica de estrías por desgaste
4. Finalmente, se colocó en la incubadora a 42°C por 48 horas.

2.6.6. Crio preservación

Después de terminar las pruebas bioquímicas y tener posibles bacterias que cumplen con las condiciones para ser *Campylobacter spp*, entonces se procedió a criopreservarla para realizarles posteriormente la identificación molecular y comprobar si se trata de la bacteria que se busca. Para realizar la criopreservación se utilizaron microtubos suspendidos en una dilución de glicerol al 15% y se guardó a una temperatura de -20°C y al momento de descongelarlos se procedió a cultivar en agar base de *Campylobacter* con la técnica de estrías por desgaste, se lo incubó en posición invertida a 42°C por 48 horas.

2.6.7. Identificación molecular

Extracción del ADN

Es el primer paso para la identificación molecular, cabe destacar que la calidad del ADN depende de la técnica y del tiempo que esta dure. Una vez que se han obtenido colonias aisladas se procedió a extraer una muestra de su ADN, para esto se siguieron los pasos descritos por Moposita (2017):

1. Para comenzar se tomaron 50mg de muestra bacteriana de las colonias sembradas en el Agar Tripticasa de Soya, estas se colocaron en un tubo Eppendorf de 1,5 ml con piedras de vidrio estériles y se añadió un buffer de extracción.
2. Se agitó la muestra con un homogenizador (BeadBeater) a máxima velocidad.

3. Una vez pulverizada la muestra se incubó en baño María a una temperatura de 60°C por 30 min.
4. Se añadió cloroformo congelado (500 µL) y se mezcló utilizando un Vortex
5. Se llevó a centrifugar por 5 a 10 min a una velocidad de 14500 xg.
6. Con la ayuda de una micropipeta se tomó 400 µL de la muestra para colocarla en un tubo Eppendorf estéril.
7. Para precipitar el ADN se añadirá el mismo volumen de etanol, 150 µL de Acetato de sodio 3M y 300 µL de etanol 70% filtrado y se llevó a la nevera a -20°C por 12 horas.
8. Se llevó de nuevo a la centrifuga por 11 a 17 min a la misma velocidad utilizada anteriormente.
9. Se realizaron dos lavados usando 200 µL de etanol 70% filtrado.
10. Se dejó secar el pellet por 20 minutos.
11. Luego se suspendió con 25 o 100 µL de agua DEPC, también se añadió 1 uL de RNAsa, y se incubó a 37°C por 3° min.
12. Para terminar, se almacenaron las muestras a -20°C.

PCR Convencional

Esta prueba se lleva a cabo en tres fases en cada ciclo, las cuales son:

- **Desnaturalización:** como su nombre lo indica aquí el ADN se desnaturaliza separando su doble hélice mediante el calentamiento de la muestra a una temperatura de 94°C durante 1 minuto, esto con el fin que la cadena sea un molde para sintetizar una nueva cadena complementaria de ADN (Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013).
- **Hibridación o alineamiento:** aquí se alinean los iniciadores a los sitios específicos complementarios que se van a amplificar, para este paso es necesario bajar la temperatura a 50 o 60°C, lo que permite la unión de los iniciadores (Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013).

- **Extensión:** se sintetiza una nueva cadena de ADN en dirección 5' a 3' para lo que se requiere una temperatura de 72°C ideal para que se dé la unión de los iniciadores y se lleve a cabo la replicación (Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013).

Estas tres etapas se repiten en cada ciclo y para desarrollarlos se utilizó la metodología aplicada por Moposita (2017), para lo cual se seguirán los siguientes pasos:

1. En el termociclador se ajustó un programa de PCR de acuerdo al ADN y los primer que se usarán (Tabla 7).

Tabla 7. Condiciones del PCR para una Taq ADN polimerasa

Etapas	Temperatura	Tiempo	
Desnaturalización inicial	95°C	3 minutos	
Desnaturalización	95°C	3 segundos	30 a 40 ciclos
Alineamiento	T _m – 3-5°C	30 segundos	
Extensión	72°C	1min/kb	
Extensión final	72°C	5 minutos	
Almacenamiento	10°C	Indefinido	

Fuente: (Moposita, 2017).

1. A continuación, se elaboró un mix de reacción mX sin ADN (Tabla 8)

Tabla 8. Mix de reacción para un volumen de 25 µL.

Componente	Volumen	Concentración final
Go Taq Green Master Mix, 2X	12.5 µL	1X
Primer forward, 10 µM	0,25 – 2.5 µL	0.1 – 1.0 µM

Primer reverse, 10 μ M	0.25 – 2.5 μ L	0.1 – 1.0 μ M
ADN	c μ L*	10 – 250 ng
Agua de PCR	A 25 μ L	

*: es el volumen de ADN para ingresar al rango de 10 – 250 ng

Fuente: (Moposita, 2017).

Tabla 9. Primers que se usarán en la investigación para la identificación molecular

Primers	Marcador	Tamaño (pb)
27F/1492R	ARN ribosomal	1500
RpoB-F/rpoB-R	Subunidad beta de la RNA polimerasa	1200
UP1/UP2r	Subunidad beta de la girasa	1260

Fuente: (Moposita, 2017).

- Después con una pipeta se tomó (25-c) μ L del mix preparado anteriormente, esto se realizó las veces que sean necesarias en los tubos PCR, es importante mencionar que c nos indicó el volumen de ADN para ingresar al rango de 10 – 250 ng.
- En otros tubos de PCR se añadió c μ L de ADN y en el mix se agregó 3 μ L de agua de PCR como control negativo.

Electroforesis horizontal en gel de agarosa

Esta es una de las técnicas más utilizadas para analizar y caracterizar los ácidos nucleicos de diferentes procedencias. En este caso se utilizan geles que se comportan como un tamiz molecular que ayudan a separar las moléculas de acuerdo a su forma y tamaño, por lo cual las moléculas de ADN con diferente tamaño emigran de manera diferente en una electroforesis en gel de agarosa por lo cual se pueden identificar si ese fragmento de ADN ya es conocido (Checa, 2020).

Preparación para realizar la electroforesis

- **Solución de trabajo de TBE 1X**

Para esto se mezcló la solución madre TBE 5X ya mencionada anteriormente con agua desionizada en proporción 1:4 (Moposita, 2017).

- **Gel de agarosa**

La cantidad a preparar de cámaras de electroforesis disponibles dependió de la cantidad de buffer TBE 1 X y agarosa, ambos compuestos se colocaron en un recipiente de vidrio el cual se procedió a colocar en el microondas por 30 a 40 segundos hasta que la mezcla este homogénea, después que se enfrié se añadió 0,5 µg/mL de bromuro de etidio (C₂₁H₂₀BrN₃), la solución se depositó en una cubeta de gel conteniendo los peines. Finalmente se dejó secar al ambiente y se procuró su protección de los rayos solares (Moposita, 2017).

Para la realización de la electroforesis horizontal en gel de agarosa se seguirá el procedimiento de Moposita (2017), que es el siguiente:

1. Se comenzó retirando los peines antes colocados en el gel de agarosa y se los colocó con el gel dentro de las cámaras de electroforesis horizontal y se reboseó con TBE 1X.
2. Se añadió 1 – 2 µL de colorante de carga, se homogenizó y se cargaron los pocillos del gel.
3. Se procedió a cerrar la cámara y conectó los electrodos de manera adecuada en dirección al ánodo.
4. Finalmente se ajustó la fuente de poder a 90 a 100 voltios por 28 a 32 minutos, tanto el voltaje como el tiempo varían de acuerdo al tamaño de los fragmentos de los ácidos nucleicos.

Secuenciación del producto de PCR

Una vez realizadas las ampliaciones por medio de la técnica de PCR estas se enviaron a Macrogen Kores con el fin de hacer una secuenciación utilizando el método Sanger de las hebras de fragmento de ADN.

Análisis bioinformático de las secuencias (Blast)

Cuando ya se obtengan las secuencias estas se buscaron en BLAST para identificar el microorganismo aislado comparándolo con la información de la base de datos completa

2.7. Variables respuesta

Tinción Gram

Se consideró como posible *Campylobacter spp* todos los bacilos Gram negativos, pequeños, curvados en forma de C o S, comúnmente se ven como una coma.

Motilidad

Se consideró como posible *Campylobacter spp* cuando se observe un movimiento rápido en forma de dardo o que presenten un movimiento de rotación rápido algo que ocurre ocasionalmente cuando uno de sus flagelos se queda anclado.

Oxidasa

Se consideró como posible *Campylobacter spp* cuando la prueba sea positiva es decir exista cambio de color en la tira reactiva.

Catalasa

Se consideró como posible *Campylobacter spp* cuando la prueba sea positiva es decir cuando observemos la formación de burbujas.

Crecimiento a 42°C

Se consideró como posible *Campylobacter spp* cuando se evidencie crecimiento de colonias a una temperatura de 42°C en un período de 48 horas.

Identificación presuntiva de *Campylobacter spp* en *Campylobacter* agar base

Se consideró como posible *Campylobacter spp* cuando las colonias sean grises, húmedas y planas (*C. jejuni*) y cuando sean colonias cremosas-grises, húmedas, ligeramente alzadas y discretas (*C.coli*).

Ficha de observación de camales

Durante la investigación de campo se llevó a cabo una inspección a los camales visitados con el fin de evaluar los factores de riesgos asociados a la contaminación de la carne de pollo a través de una ficha de observación, en la Tabla 10 se describen todas las variables estudiadas.

Tabla 10. Ficha de observación

	Puntuación
Seguridad sanitaria del establecimiento	
La zona de ubicación del camal no tiene control de plagas, existe ceniza y gases tóxicos que contaminan el establecimiento.	0
No hay presencia de ceniza ni gases tóxicos cerca del camal, pero no hay control de las plagas.	1
La zona de ubicación del camal no tiene presencia de cenizas ni gases tóxicos y existe control de plagas.	2
Seguridad sanitaria mediante el control de especies faenadas	
Existe el faenamiento de otras especies con frecuencia.	0
Existe el faenamiento de otras especies ocasionalmente.	1
Solo se faenan aves.	2
Seguridad sanitaria de las canales	
No hay disponibilidad de agua potable.	0
El agua está acorde al número de aves, pero no se lleva a cabo tratamientos de la misma.	1
El agua está acorde al número de aves y tienen un tratamiento constante.	2
Capacitación del personal	
La planta de faenamiento cuenta con la asistencia Técnica de un Médico Veterinario que capacite al personal una vez al año acerca de temas tales como: las buenas practicas higiénico sanitarias, la inocuidad y la bioseguridad.	0
La planta de faenamiento cuenta con la asistencia Técnica de un Médico Veterinario que capacite al personal una vez al mes acerca de temas tales como: las buenas practicas higiénico sanitarias, la inocuidad y la bioseguridad.	1

La planta de faenamiento cuenta con la asistencia Técnica de un Médico Veterinario que capacite al personal una vez a la semana acerca de temas tales como: las buenas practicas higiénico sanitarias, la inocuidad y la bioseguridad.	2
Seguridad sanitaria del personal	
La indumentaria de los operarios NO es adecuada para sus actividades incrementando el riesgo de contaminación cruzada	0
Algunos operarios cumplen con la indumentaria mientras que otros no	1
Todos los operarios visten la indumentaria adecuada disminuyendo el riesgo de contaminación cruzada	2
Seguridad sanitaria de la zona de espera	
No existe un control adecuado de los animales sacrificados, así como de las guías de movilización. La zona no está delimitada en la recepción, el área limpia y sucia.	0
Hay un control de los animales sacrificados, así como de las guías de movilización. Existe el área de recepción pero no se delimita el área limpia de la sucia.	1
Hay un control de los animales sacrificados los mismos que cuentan con su respectiva guía de movilización. La zona está delimitada adecuadamente en la recepción, el área limpia y sucia.	2
Seguridad de la canal	
No hay una definición clara de las zonas de procesamiento tales como el escaldado, lavado, eviscerado, aturdimiento, desangrado, empaquetado.	0
Hay una delimitación parcial de las zonas de procesamiento tales como el escaldado, lavado, eviscerado, aturdimiento, desangrado, empaquetado.	1
Tienen claramente definida las zonas de procesamiento tales como el escaldado, lavado, eviscerado, aturdimiento, desangrado, empaquetado.	2
Escaldado	
No hay control de la temperatura.	0
El escaldado se realiza a una temperatura de 64°C por 75 segundos.	1
El escaldado se realiza a una temperatura de 53°C por 120 segundos, además se monitorea el pH usando productos alcalinos.	2
Desplumado	
Se realiza manualmente.	0
Se realiza en una maquina peladora de pollos cilíndrica.	1

Se realiza en máquinas verticales peladoras de pollo, donde el desplume del cuerpo es independiente al de las patas.	2
Eviscerado	
El lavado de vísceras NO es independiente de las carcasas.	0
El lavado de vísceras y carcasas es independiente, sin embargo, el agua usada no es tratada.	1
El lavado de vísceras y carcasas es independiente, además son las carcasas se lavan a presión con agua tratada.	2
Enfriamiento	
No hay un mecanismo adecuado para reducir la temperatura de la canal (2°C), antes de su distribución a los puntos de venta.	0
Se utilizan hielos con ausencia de flujos del agua para reducir la temperatura de la carne (2°C).	1
Se produce el pre enfriado y el enfriado de la canal para reducir la temperatura de la carne (2°C).	2
Inocuidad de la canal	
Las herramientas, mesas y maquinaria usada son de acero inoxidable, pero NO se limpian durante la jornada.	0
Las herramientas, mesas y maquinaria usada son de acero inoxidable, las cuales se limpian ocasionalmente durante la jornada.	1
Las herramientas, mesas y maquinaria usada son de acero inoxidable, las cuales se limpian frecuentemente durante la jornada.	2

Nota. Donde 0 fue categorizado como malo, 1 como regular y 2 como bueno

Fuente: (AGROCALIDAD, 2018)

2.8. Procesamiento de la información

Todos los datos obtenidos de la presente investigación se registraron en una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel® 2016.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

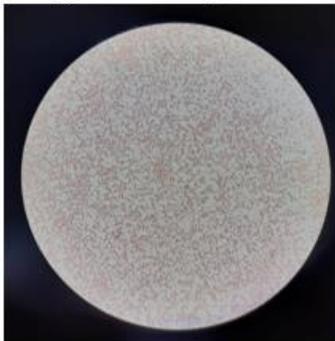
En el presente estudio se realizó el muestreo de 9 plantas de faenamiento que se encargan de abastecer de carne de pollo a los diferentes puntos de venta de la ciudad de Ambato, de cada planta de faenamiento se tomaron 5 muestras por lo cual se procesaron un total de 45 muestras dividiéndolas en tres semanas, cabe destacar que se realizó un duplicado de cada muestra.

3.1 Identificación de *Campylobacter spp* mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas

Figura 3. Pruebas morfológicas y bioquímicas realizadas



Crecimiento bacteriano en
Campylobacter Agar Base



Tinción Gram



Catalasa positiva



Oxidasa positiva

Para el aislamiento de la bacteria la siembra se realizó en un medio selectivo, en este caso se utilizó el *Campylobacter* Agar Base al cual se añadió el suplemento III- Skirrow, una vez recogida la muestra se realizó pre enriquecimiento con agua peptonada y se dejó incubar por 24h a 37°C, para realizar la identificación en el laboratorio se llevaron a cabo técnicas microbiológicas y bioquímicas tales como el crecimiento a 42°C por 48 horas en el agar selectivo, tinción Gram, oxidasa, catalasa y motilidad.

Para que una bacteria se considere una posible *Campylobacter spp* tenía que cumplir con los parámetros establecidos en la Tabla 11.

Tabla 11. Características morfológicas y bioquímicas de *Campylobacter spp*

Crecimiento en agar base <i>Campylobacter</i> a 42°C	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa	Tinción Gram	Motilidad
Las colonias no presentan hemolisis, tienen bordes irregulares, coloración gris y superficie brillante	+	+	Bacilos Gram negativos curvos en forma de bastón o “alas de gaviota”	+
Fuente: (Figueroa, 2006)				
Resultados obtenidos				
Cumplen 45/45 100%	Positivos 33/45 73,33%	Positivos 21/45 46,66%	Cumplen 14/45 31,11%	Positivos 14/45 31,11%
No cumplen 0/45 0%	Negativos 12/45 26,66%	Negativos 24/45 53,33%	No cumplen 76/45 68,88%	Negativos 0/45 0%

De acuerdo a los resultados obtenidos de las 45 muestras 45/45 (100%) crecieron en el *Campylobacter* Agar Base a 42°C en 48 horas, estas fueron sometidas a tinción Gram en donde se obtuvo que el 14/45 (31,11%) coinciden con la morfología de *Campylobacter spp* siendo Gram negativas teniendo forma de bastón o de “alas de gaviota”, en cuanto a la prueba de catalasa el 33/45 (73,33%) resultaron positivas, mientras que en la prueba de oxidasa existieron 21/45 (28,88%) de bacterias positivas. Con base en estos resultados se escogieron a las bacterias que cumplían con todos los requerimientos para realizar la prueba de motilidad, según Morales (2004) la prueba de motilidad tiene un porcentaje de predicción de un 85%, y se realiza con solución salina, para la observación se necesita de un microscopio de contraste de fases o de campo oscuro, el resultado de la prueba es positivo cuando se observan bacilos curvos o espirilados, que posean uno o dos flagelos polares los cuales le proporcionan a la bacteria un movimiento circular o similar al de un sacacorchos, en la presente investigación se utilizó agua peptonada y un microscopio de contraste de fases, obteniendo que de las 14 muestras sometidas a la prueba de motilidad el 100% presentó las características anteriormente descritas.

Una vez reunido todos los resultados de las pruebas morfológicas y bioquímicas se identificaron solo 14 (31,11%) muestras de las 45 que cumplieron con todos los parámetros establecidos para ser considerada una posible *Campylobacter spp*, por lo cual estas muestras fueron repicadas en agar Trypticase de Soya con el fin de aislar colonias, de las placas mejor aisladas se realizó identificación molecular, y posteriormente se criopreservaron todas candidatas.

Resultados obtenidos por planta de faenamiento

Tabla 12. Resultados obtenidos de acuerdo a cada planta de faenamiento

Plantas de faenamiento	Crecimiento bacteriano a 42° (+)	Catalasa (+)	Oxidasa (+)	Tinción Gram (-)	Motilidad (+)	Candidatas
Plantas de faenamiento 1	5/5 100%	5/5 100%	3/5 60%	2/5 40%	2/5 40%	2/5 40%
Plantas de faenamiento 2	5/5 100%	4/5 80%	5/5 100%	4/5 80%	4/5 80%	4/5 80%
Plantas de faenamiento 3	5/5 100%	4/5 80%	2/5 40%	2/5 40%	2/5 40%	2/5 40%
Plantas de faenamiento 4	5/5 100%	1/5 20%	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%
Plantas de faenamiento 5	5/5 100%	4/5 80%	1/5 20%	2/5 20%	1/5 20%	1/5 20%
Plantas de faenamiento 6	5/5 100%	3/5 60%	2/5 40%	3/5 40%	2/5 40%	2/5 40%
Plantas de faenamiento 7	5/5 100%	4/5 80%	3/5 60%	2/5 40%	2/5 40%	2/5 40%
Plantas de faenamiento 8	5/5 100%	4/5 80%	2/5 40%	1/5 20%	1/5 20%	1/5 20%
Plantas de faenamiento 9	5/5 100%	4/5 80%	3/5 60%	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%
TOTAL	45/45 100%	33/45 73,33%	21/45 46,66%	16/45 35,55%	14/45 31,11%	14/45 31,11%

Como se observa en la Tabla 12 la planta de faenamiento 3 fue de la que más se aislaron posibles candidatas de *Campylobacter spp* mientras que las plantas de faenamiento 1 y 9 no tenían ninguna candidata.

La presencia de *Campylobacter spp* en la carne de pollo proveniente de plantas de faenamiento implica un problema para la salud pública debido a que al comer carne contaminada el ser humano desarrolla síntomas gastrointestinales que pueden resultar graves especialmente en los niños, la frecuencia de esta bacteria en la carne de pollo es muy alta debido a que esta especie es uno de sus reservorios más importantes (Paguanquiza, 2016), según Ono & Yamamoto (1999), durante el proceso de faenamiento el momento en que ocurre la mayor contaminación es en la etapa de eviscerado ya que el tracto intestinal es el lugar predilecto para esta bacteria.

Existen varias investigaciones que determinan la presencia de *Campylobacter spp* en las plantas de faenamiento, sin embargo, la mayoría toma las muestras del ciego porque es la zona predilecta de esta bacteria, hay pocas investigaciones que usan directamente la carne de pollo como muestra y se diferencian entre sí por el medio selectivo que utilizan pues existen muchas opciones, como ya se mencionó en el actual estudio se usó *Campylobacter* Agar Base en donde el resultado fue de un 17,77% (8/45) de posibles *Campylobacter spp*, este resultado es más alto a lo conseguido por Figueroa (2006) quien realizó un muestreo en dos plantas de faenamiento obteniendo un 15,15% (20/132) en la planta A y un 9,52% (16/168) en la planta B procesando 300 muestras en total en un periodo de 6 meses, este estudio se realizó en el Instituto de Nutrición de Tecnología de los Alimentos INTA de la universidad de Chile con una muestra de 500gr de pollo y la siembra se realizó en agar mCCDA. Lucas, Vilca, & Ramos (2013) realizaron un estudio en canales y ciegos de pollo, las muestras se recolectaron de centros de acopio en Lima – Perú y fueron procesadas en los laboratorios de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos utilizando el agar mCCDA, como resultado obtuvieron un 16,7% de frecuencia de *Campylobacter* en las canales y 26,7% en los ciegos estos resultados son similares al presente estudio. De la misma manera Decap (2008) en su estudio realizó el muestreo en dos fases distintas del proceso de faenamiento de los pollos tomando un total de 259 muestras de la zona de eviscerado y de enfriamiento en dos plantas de faenamiento distintas de la Región Metropolitana de Chile, los resultados que se obtuvieron demostraron que el aislamiento de *Campylobacter jejuni* fue mayor en la etapa de eviscerado con un 71% (97/136) mientras que disminuyó en la etapa de enfriamiento a un 56% (69/123), estos porcentajes obtenidos son muy superiores al actual estudio

posiblemente se deba al tamaño de la muestra. Por el contrario, Cortez et al. (2006) en su estudio obtuvo que de un total de 288 muestras de dos plantas de faenamiento solo el 4.9% (14/188) fueron positivas a *Campylobacter spp* siendo un resultado más bajo que los reportados por la presente investigación. Las diferencias en los resultados se deben principalmente al tamaño de la muestra y el manejo de las buenas prácticas que tenga la planta de faenamiento de la cual se obtiene la carne pollo, además la etapa en la cual se toma la muestra es de gran importancia porque de acuerdo a la mayoría de investigaciones la frecuencia de *Campylobacter spp* aumenta después del proceso de evisceración y al ser una bacteria muy sensible a la temperatura desciende su presencia en la etapa de enfriamiento.

3.2. Identificación molecular de los aislados bacterianos

Al finalizar con las pruebas morfológicas y bioquímicas se obtuvieron 14 candidatas de las cuales 8 se repicaron en Agar Tripticasa de Soya para aislar colonias y proceder con la identificación molecular, con la utilización de métodos convencionales se extrajo el ADN bacteriano, a partir de las colonias anteriormente aisladas se obtienen 50mg de muestra, para identificar la pureza de dicho ADN se utilizó espectrofotometría de micro volúmenes tomando en cuenta la relación de absorbancia de 260/280 nm.

Para amplificar la secuencia del gen 16S rRNA situado en la subunidad menor del ribosoma se necesitaron de los primers universales los cuales fueron el 27F [5´ AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3´] y el 1492R [5´GGTTACCTTGTTACGACTT3´], el termociclador se programó de la siguiente forma: 1 ciclo en donde se llevó a cabo desnaturalización inicial por 3 minutos a 95°C, seguidamente se llevaron a cabo 30 ciclos del mismo modo se da la desnaturalización por 30 segundos a 95°C, a continuación la alineación Tm 3 a 5°C por 30 segundos, la extensión duró 1 min/kb a 72°C, por último en el ciclo final se produjo la extensión final por 5 minutos a 72°C. Finalmente se llevó a cabo la electroforesis horizontal utilizando gel de agarosa al 0,5% ajustando la fuente de poder a 100 voltios (V) durante 40 minutos, donde se observó los productos obtenidos de la amplificación a través del sistema de imagen táctil ENDURO GDS.

Los resultados obtenidos de la identificación celular se observan en la Tabla 13.

Tabla 13. Resultados de la identificación molecular

Número de muestra identificada	Bacteria
Nº5	<i>Enterococcus gallinarum</i>
Nº10	<i>Enterococcus faecalis</i>
Nº11	
Nº13	
Nº30	<i>Aeromonas veronii</i>
Nº35	
Nº31	<i>Escherichia fergusonii</i>
Nº37	<i>Escherichia coli</i>

De acuerdo a la Tabla 13 el ADN bacteriano obtenido no pertenecía a la especie *Campylobacter spp*, a continuación, se describen las bacterias identificadas.

Enterococcus faecalis

Figura 4. Información y secuencia ensamblada del genoma de la especie *E. faecalis*

Enterococcus faecalis cepa PartL-Efaecalis-RM8376 cromosoma, genoma completo

GenBank: CP064374.1

[Gráficos](#) [rápidos](#)

LOCUS CP064374 2866948 pb ADN circular BCT 11-ABR-2022

DEFINICIÓN Enterococcus faecalis cepa PartL-Efaecalis-RM8376 cromosoma, genoma completo.

ADHESIÓN CP064374

VERSIÓN CP064374.1

DBLINK BioProyecto: [PBL7HA605254](#)

BioMuestra: [SAM914078883](#)

PALABRAS CLAVE .

FUENTE Enterococcus faecalis

ORGANISMO [Enterococcus faecalis](#)

bacterios; bacillota; bacilos; lactobacillales; enterococcales; Enterococo.

>8570. N11C-UTA
CACCCCAATCATCTATCCACCTTAGGGCGTGGCTCCAAAAAGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGGCGTGTGTACAAAGCCCGGAAACGTATTACCCGGCGTGTGATCCGGATTACTAGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCCGAGTTGACAGCCTGCAATCCGAACCTGAGAGAAGCTTTAAGAGATTGGCATGACCTCGCGGTCTAGCGACTCGTTGTACTCCCATTTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAGTCTAAGGGGATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGCACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCECAACTAAATGATGGCAACTAACAATAAGGGTTGCGCTGTGGGGACTTAACCCCAACATCTCACGACAGAGTGCAGCAACATGACACCTGTCACTTTGTCCTCCGAAAGGGAAAGCTCTATCTTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAGACCTGGTAAGGTCTCTCGCGTGTCTCGAATTAACCCATGCTCCACCGCTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGGCGTCTGCTCCCAAGCGGAGTCTTAATGCGTTTGTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCCCTCAACTTAGCACTATCGTTTACGGGCTGGCACTACCAAGGGTATCTAATCTGTGTGCTCCCAAGCTTTCAGCTCAGCTCAGCTACAGACAGAGAGCCGCTTCGCACTGGTGTTCCTCCATATATACAGCTTTTACCGCTACACATGGAATTCACCTCTCTCTCTGACTCAAGTCTCCAGTTTCCAAATGACCTCCCGGTTGAGCCGGGGCTTTCACATCAGACTAAGAAACCGCTCGCTTACGCCCAATAAATCCGGACACCGCTTGCCA
CCTACGTATTACCGGGCTGCTGGACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTAGATACCGTAGGGGACGTTTCAGTACTAACGTCCTTGTCTCTAAACAAGAGTTTACGATCCGAAACCTCTCACTACCGGGCGGTTGCTCGGTACAGACTTTGCTCCATTGGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCTGCTCCGGTAGGAGTCTGGGCGTGTGCTGCTCCGATGCTGGCCGATCACCCCTCAGGTCCGCTATGATGCTGGCCCTTGGTGGGCTTACCTCACTCACTAGCTAAGTCAAGCAACCGGGTCCATCCTCAAGCAGACCCGAAGCGCTTCACTCTTATGCCATCGCGCACTAAGTATGCGGTTATAGCACTGTTCCTCCAAAGTGTATCCCCCTCTGATGGGTACCCACGTGTTACTCACCGCTCCGCACTCTCTTCCAAITGATGAGTCAAGCACTCGGAGGAAAGCGTTTGCATGATGTTAGGACCGCCGACGCTTCTGTC

Esta bacteria pertenece a la familia *Enterococcaceae*, su crecimiento en el laboratorio se lleva a cabo en cualquier caldo nutritivo debido a su naturaleza de anaerobio facultativo, producen ácido láctico, no producen gas, son catalasa negativos pero ocasionalmente pueden dar un resultado positivo, son Gram positivos, además de crecer en temperaturas desde los 10 a 45°C, este enterococo es bastante resistente a los ambientes más adversos (Borges et al., 2013), característica por la cual está presente en el suelo, los alimentos, el agua, en el sistema gastrointestinal y urinario de los humanos y animales (Herrera, Vargas, & Campos, 1998). La calidad sanitaria del agua y de los alimentos se comprueba a través del aislamiento de esta bacteria, la cual indica contaminación de origen fecal (Díaz, Rodríguez, & Zhurbenko, 2013), se diferencian del resto de bacterias debido a su resistencia natural a una variedad de antibióticos tales como: B-láctamicos, lincomicinas, aminoglucósidos y trimetropim, siendo sensibles a la vancomicina la cual es considerada como el antibiótico de último recurso contra las infecciones causadas por este patógeno (Herrera, Vargas, & Campos, 1998), sin embargo, a finales de los años 80 se comenzaron a identificar cepas de *Enterococcus* que presentan resistencia a este antibiótico, Arthur & Quintiliani (2001) describen que los *Enterococcus* capaces de resistir a la vancomicina tienen dos genes conocidos como VanA y VanB que se encargan de codificar tres enzimas que dan como resultado el depsipéptido D-alanil-D-lactato que termina uniéndose a los glucopéptidos de afinidad reducida evitando que la vancomicina inhiba la síntesis de la pared celular de la bacteria. Es importante destacar que *E. faecalis*, *E. coli* y *C. jejuni* al ser consideradas bacterias frecuentes en el intestino son utilizadas como un indicador del control de la resistencia a los antimicrobianos en las aves (Rivera et al., 2021).

De acuerdo a la investigación de Loughlin et al. (2015) en donde se realizó un experimento con ratones tratados con ampicilina se encontró que *E. faecalis* inhibe el crecimiento de *C. jejuni*, para poder comprobar esto realizaron un cocultivo de las dos bacterias en leche pasteurizada, la incubación duro 24 h al analizar el cultivo no se observaron bacterias viables de *C. jejuni* debido a que existió acidificación del medio por producción de ácido láctico por parte de la *E. faecalis* comprobando que esta bacteria inhibe el crecimiento in vitro de *C. jejuni*.

Entre los estudios que reportan *E. faecalis* en la carne de pollo tenemos como ejemplo el de López et al. (2021) en donde tomaron 60 muestras de carne de pollo repartidas en toda la cadena avícola como lo son la granja, el frigorífico y el supermercado, obteniendo como resultado que 19/20 (95%) muestras fueron *E. faecalis* en la granja, no existió presencia en el frigorífico y en el supermercado se aislaron 17/20 (85%), estos resultados indican que existe una amplia contaminación fecal en la carne de pollo debido a las malas prácticas de manejo tanto en el proceso de faenamiento como en la manipulación de la carne en el supermercado. Por su lado Giraldi (2014), en su investigación proceso 36 muestras de distintos alimentos, 16 de carne de pollo, 10 de carne de cerdo, 6 de subproductos de la carne de cerdo y 4 de subproductos de la carne de pollo, obteniendo como resultado global que un 61% de las muestras estaban contaminadas con *Enterococcus* (38,88% en la carne de pollo, 19,44% en la carne de cerdo y 2,7% en los subproductos cárnicos) en donde confirmo que *E. faecalis* fue más frecuente especialmente en la carne de pollo debido a la contaminación endógena producida en las plantas de faenamiento.

Enterococcus gallinarum

Figura 5. Información y secuencia ensamblada del genoma de la especie de la especie *E. gallinarum*

<p>Enterococcus gallinarum cepa FDAARGOS_728 cromosoma, genoma completo</p> <p>GenBank: CP046307.1</p> <p>GenBank CP046307.1</p> <p>GenBank CP046307.1</p> <p>LOCUS CP046307.1 3274932 pb ADN circular BCT 05-DEC-2020</p> <p>DEFINITION Enterococcus gallinarum cepa FDAARGOS_728 cromosoma, completo</p> <p>genoma</p> <p>ADMISSION CP046307</p> <p>VERSION CP046307.1</p> <p>ORIGIN BioProject: PRJNA111221</p> <p>BioProject: SRP1105641</p> <p>PALABRAS CLAVE .</p> <p>FUENTE Enterococcus gallinarum</p> <p>ORGANISMO Enterococcus gallinarum</p> <p>bacteria; bacillota; bacili; lactobacillales; enterococcales; Enterococo.</p>	<p>>8568 NSC-UTA</p> <p>GACGAACGCTGGCGGCTGCCTAATACATGAAGTCGAACGCTTTTCTTCCACGGAGCTTGTCCACCGAAAGAAAA</p> <p>AGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATCAGAAAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGTAATA</p> <p>CCGTATAACACTATTTCCGATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGCTTTCCGCTACTGATGGATGGACCCCGGTCATTA</p> <p>GCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGCCACGATGATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGGCCACACTGGGACT</p> <p>GAGACACGGCCGACTCTACGGAGCGAGCAGTAGGAATCTTCGGCAATGGACAAAGTCTGACCGAGCAACGC</p> <p>CGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTGGATCGTAAACTCTGTTTGTAGAGAAGAACAAAGGATGAGAGTAGAACTTCATCC</p> <p>CTTGACGGTATCTAACGAAAGCCACGGCTAACCTGTCGACGAGCGCGGTAATACGTAGTGGACGCGTGTGTC</p> <p>CGGATTTATGGCGTAAAGCGAGCGAGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGCTAACCGGGGAGGG</p> <p>TCATTGGAAACTGGGAGCTTGTAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTAAATGCGTAGATAT</p> <p>GGAGAAACACCGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAG</p> <p>GATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGTGCGAC</p> <p>AAACGCTAATGACACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAG</p> <p>CGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCCAAGAACCCTACGAGTCTTGACATCCCTTGACCACTCTAGAGATA</p> <p>GAGCTTCCCTTCGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGGTGTGCTGCTGCTGCTGCTGATGTTGGTGGTAAAGT</p> <p>CCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTCATCATTTAGTTGGGCACTACGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA</p> <p>GGAAAGTGGGGATGACGCTAAATCATGCTCCCTTATGACTGGGCTACACAGCTGCTACAATGGGAAGTACAACGA</p> <p>GTTGGAAAGTGGGGTAAAGTAACTCTCTAAAGCTTCTCAGTTGGGATTGTAGGCTCAACTGCGCTCATGAA</p> <p>GCCGGAATCGCTAGTAATCGGGATCAGCACGCCCGGTAATCGTTCGGGGCTTGTACACACGCCCGCTCACAC</p> <p>CACGAGAGTTTGAACACCCGAAGTCGGTGAAGTAACTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGTGGGATAGATGATGGG</p> <p>GTG</p>
---	---

También pertenece a la familia *Enterococcaceae* y comparte las mismas características bioquímicas que *E. faecalis*, sin embargo, esta no es tan común de aislar, además de

poseer una resistencia natural intrínseca baja a la vancomicina debido a la presencia del gen VanC1 que sintetiza depsipéptido terminal D-alanina-D-serina provocando una menor afinidad de la vancomicina (Togneri, Lopardo, & Corso, 2003). Los *Enterococos* se aíslan frecuentemente de la carne de bovino, aves y de cerdos, especialmente en el matadero, ya que se produce una contaminación endógena en el momento de la evisceración, además de ser capaces de soportar los diferentes procesos de conservación de la carne como pasteurización, fermentación y refrigeración (Giraldi, 2014).

Con el fin de demostrar la creciente resistencia antimicrobiana a la vancomicina Lemcke & Bulte (2001), en su estudio utilizaron agar Columbia CNA suplementado con vancomicina para sembrar 1643 aislamientos de *Enterococcus* provenientes de 50 muestras de carne de cerdo y 115 de carne de pollo, obteniendo 420 aislados resistentes a vancomicina resaltando que de las muestras de cerdo no existió ninguna cepa de *E. gallinarum*, sin embargo, en los aislados de la carne de pollo el 43,5% contenía el gen VanC1 propio de *E. gallinarum* lo que significa que la contaminación por esta bacteria era bastante alta, además representando un peligro para la salud pública porque estos patógenos con resistencia a los antibióticos son capaces de infectar al ser humano a través de la ingesta de carne contaminada provocando infecciones difíciles de tratar.

Aeromonas veronii

Figura 6. Información y secuencia ensamblada del genoma de la especie *A. veronii*

<p>ADN de <i>Aeromonas veronii</i>, genoma completo, cepa: WP3-W19-ESBL-03</p> <p>GenBank: APO22038.1</p> <p>Créditos de datos</p> <p>LOCUS APO22038 4041587 pb ADN circular OCT 22-JUL-2020</p> <p>DEFINICIÓN ADN de <i>Aeromonas veronii</i>, genoma completo, cepa: WP3-W19-ESBL-03.</p> <p>ADRESIDN APO22038</p> <p>VERSION APO22038.1</p> <p>ORIGIN BioProject: PRJEB60202</p> <p>Size: 4041587</p> <p>Archivo de lectura de secuencia: ORB222273</p> <p>PALABRAS CLAVE</p> <p>FUENTE <i>Aeromonas veronii</i> (<i>Aeromonas</i> [ochrosia])</p> <p>ORGANISMO <i>Aeromonas veronii</i></p> <p>taxon: Bacteria; pseudomonadota; gammaproteobacteria; Aeromonadales; Aeromonadaceae; Aeromonas.</p>	<p>>B573.N30IN-UTA</p> <p>GACTTCACCCAGTCATGAATCACACCGTGGTAAACGCCCCCAGGTTAAGCTATCTACTCTGGTGAACCCACTC CCATGGTGTGACGGGGGGTGTACAAGGCCGGGAACGATTACCGCAACATTCTGATTTGGATTACTAGCGATT CCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCGACTCCGATCCGACTACGACGCTTTTTGGGATTGCTCACTATCGTAGCTT GCAGCCCTCTGACCGCCATTGTAGCACGTGTAGCCCTGGCCGTAAGGGCCATGACTGACGTCATCCCACC TTCTCCGGTTTATCACCGGAGTCTCCCTTGAGTCCCACTTACGTGTGGCAACAAGGACAGGGGTTGGCTCG TTGGCGGACTTAAACCAACTCTCACGACAGGAGTGCAGCAGCCATGCGACACTGTGTTCTGATTCCCAAGGCAC TCCCATCTCTACAGGATTCAGACATGTCAAGGCCAGGTAAGGTTCTCGGTGTCATGCAATTAACCATGCTCC ACCGCTTGTGGGGCCCCGTCATTTGAGTTTTAACCTTGGCCGCTACTCCCAGGCGGTCGATTTAACGGTT AGCTCCGGAAGCCACGCTCAAGGACACAGCTCCAATCGACATGTTACGGCTGGACTACCAGGGTATCTAATCC TGTTTGTCCCAAGCTTTCGCACTGAGCGTCAGTCTTTGTCAGGGGGCCGCTTCGCCACCGGATTTCTCCAGATC TCTAGCATTTCACCGCTACACTGGAAATCTACCCCCCTACAAGACTAGCTGGACAGTTTTAAATGCAATTC GGTTGAGCCCGGGCTTTCACATCTAATTTACCAACCGCTGCGTGGCTTTACGCCAGTAATTCGATTACGCTTG CACCCTCCGATTACCGGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTCTTCTCTGCGAGTAACGTCACAGCTGCGAGTTAT TGCTACCAACTTTCTCTCGCTGAAAGTCTTACAAACCGAGGCTTCTCACACACGCGGATGCTGCTCATGAG GGTTTCCCCATTGTGCAATTTCCCACTGCTGCCCTCCGTAAGGAGCTGACCGTGTCTCAGTTCAGTGTGGCTGAT CATCTCTCAGACAGTAGGATCGTGGCTTGGTAGCCATTACCTCACAACAGTCAATCCCACCTGGGTTACATC AATCGCGAAGGCCGAAGTCCCTGCTTTCCCGTAGGGGATGCGGTTATAGCAGTGGTTTCAACTGTTATCC CCTCGACTGGGCAGATCCCAAGGATTACTCACCCGCTCCCGCTCCGCCGCAAAAGTAGCAAGTACTTTCCCGCTG CCGCTGACTTGCATGTGTTAGGCTGCCGCCAGCGTTCAAT</p>
---	---

Este patógeno pertenece a la familia *Aeromonadaceae*, bioquímicamente se caracteriza por ser Gram negativa, bacilo con forma de bastón, móvil, oxidasa positiva, catalasa positiva, anaerobio facultativo, termófila con una temperatura de crecimiento óptima desde los 40 a 45°C, para su aislamiento en laboratorio generalmente se utiliza agar MacConkey o XLD (Castro et al., 2002). Esta bacteria está presente en el ambiente principalmente en el agua y es común aislarla de muestras obtenidas de humanos y animales, la mayoría de las investigaciones que existen respecto a este microorganismo buscan comprobar en qué porcentaje de humanos expuestos al agua o alimento contaminado se desarrollan síntomas gastrointestinales o extra intestinales (Sifaw et al, 2014).

En el presente estudio a pesar de usar antibióticos en el medio de cultivo estos no impidieron su crecimiento, esto posiblemente se explique con el reporte de Bravo et al. (2007), en donde se identificó que *A. veronii* es resistente a una variedad de antibióticos, este autor realizó un experimento de resistencia de 44 cepas de *Aeromonas* entre ellas reporto que *A. veronii* fue resistente en un 100% a estreptomycin, carbenicilina, penicilina y eritromicina, en porcentajes más bajos fue resistente a trimetropim, ampicilina y novobiocina, sin embargo, presentan sensibilidad a las cefalosporinas de amplio espectro como la cefotaxima.

En cuanto a su aislamiento en carne de pollo Rossi et al. (2006) mencionan que es bastante frecuente aislarla de canales y cortes comerciales las cuales se contaminan principalmente a través del agua siendo esta el principal reservorio de la bacteria, estos mismos autores realizaron un estudio en una planta de faenamiento con un alto estándar higiénico-sanitario, tomaron 80 muestras de las cuales 65 (81,2%) estaban contaminadas por *Aeromonas* en donde 14 (17,4%) eran *A. hydrophila*, 45 (56,2%) *A. caviae*, 28 (35%) *A. sobria*, 8 (10%) *A. schubertii*, 1(1,2%) *A. trota* y 1(1,2%) *A. veronii*, es importante mencionar que las *Aeromonas* tiene un alto potencial patógeno debido a su capacidad de multiplicarse incluso en refrigeración, por lo tanto, los alimentos contaminados con esta

bacteria representan una amenaza para la salud de las personas. De igual manera, Nagar, Shashidhar, & Bandekar (2011) realizaron un estudio con un duracion de dos años en donde se tomó un total 154 muestras distribuidas entre carne de pollo, pescado y verduras de diferentes puntos de venta en Mumbai, India, como resultado 18 (11,7%) muestras presentaron aislamiento de *Aeromonas* siendo las muestras de pollo las que tuvieron mayor contaminacion con un 28,6 % del total, seguido de la carne de pescado con un 20% y finalmente las verduras con un 2,5%, siendo *A. veronii* una de las bacterias con mayor frecuencia encontrada en este estudio.

Escherichia coli

Figura 7. Información y secuencia ensamblada del genoma de la especie de la especie *E. coli*

<p>Escherichia coli cepa GN03344 cromosoma, genoma completo</p> <p>GenBank: CP095544.1</p> <p>Gráficos Mapas</p> <p>LOCUS CP095544 4966856 pb ADN circular BCT 05-DIC-2022</p> <p>DEFINICIÓN Escherichia coli cepa GN03344 cromosoma, genoma completo.</p> <p>ADHESIÓN CP095544</p> <p>VERSIÓN CP095544.1</p> <p>DBLINK BioProyecto: PRJNA823807</p> <p>BioMuestra: SAMN27361471</p> <p>PALABRAS CLAVE .</p> <p>FUENTE Escherichia coli</p> <p>ORGANISMO Escherichia coli</p> <p>bacterias; pseudomonadota; gammaproteobacteria; enterobacterias; enterobacterias; Escherichia.</p>	<p>> B579.37C-UTA</p> <p>GCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGATAACTACTGGAACGGGTAGC TAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAGAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAG CTAGTAGGTGGGGTAAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAACCTG AGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGACGAGTGGGAAATTGCACAATGGGGCGCAAGCTGATGACGAGCCATGCC GCGGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCAT TGACGTACCCGAGAAAGACCGGTAACCTCCGTGACGACCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATC GGAACTACTGGCGTAAAGCGCACGCGGCGTGTAAAGTCAAGTGTGAAATCCCGGGCTCAACTGGGAACCTG ATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTGATGAGGGGGGTAGAAATTCAGGTGACGGTGAATGCGTAGAGATCTGG AGGAATACCGGTGGCGAAGGGCGCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAACAGGA TTAGATACCTGGTAGTCCACCGGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTGTGGCCCTGAGGCGTGGCTCCGGAGCTAA CGGTAAAGTGCACCGCTGGGAGTACGGCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATGACGGGGGCCCGCAAGCGG TGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCGTCTGACATCCAGGAAAGTTTCAGAGATGAG AATGTGCTTCGGGAACCGTGAAGACAGGTGCTGATGCTGCTGCTGACGCTGTTGGTGAATGTTGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCTTATCCTTTGTTGCCAGCGTCCGCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAGCTGGA GGAAGGTGGGATGACGTCAAGTTCATCATGCCCTTACGACCGGGCTACACAGTGTACAAATGGGGCATAAAG AGAAGCGACTTCGGAGAGCAAGCGGACTCATAAAGTGGCTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG AAGTCGGAATCGTAGTAACTGTGGATCAGAAATGCCAGGTGAATACGTTCCGGGCTGTACACACCGCCCGTAC ACCACTGGGAGTGGTTGCAAAAAGAAGTAGTAGTAACTTCGGGAGGGCGCTTACCACTTTGTGATTCATGACTGG GGTG</p>
--	---

E. coli pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, es una bacteria muy relevante y ampliamente estudiada debido a que es la causante de una variedad de infecciones, bioquímicamente se caracteriza por ser Gram negativa, catalasa positiva, anaerobia facultativa, poseer movilidad, no formar esporas, su crecimiento en el laboratorio no es muy exigente porque necesita pocos nutrientes por lo cual no es necesario utilizar un medio selectivo, solo basta con agar nutritivo (Janon, 2016).

El principal reservorio de esta bacteria es el tracto digestivo del ser humano y de los animales principalmente los jóvenes recién destetados o inmunosuprimidos, cabe destacar que en la carne de pollo en sí no existe una alta prevalencia de esta bacteria, sin embargo, la mala práctica en el proceso de faenado causa su contaminación y pone en riesgo la salud pública (Villacís, Granda, & Irazabal, 2020). En conjunto con *Campylobacter* y *Salmonella* son las bacterias que se identifican más frecuentemente en la carne de pollo debido a la contaminación que se produce al momento de la evisceración en donde ocasionalmente se pone en contacto el tracto intestinal con la carne, por esta misma razón son consideradas las principales causantes de las toxiinfecciones alimentarias a nivel mundial (Faúndez, 2018).

Es importante mencionar que *E. coli* con el paso del tiempo ha desarrollado varios mecanismos que la han convertido en una bacteria multirresistente a los antibióticos tales como la inactivación enzimática, alteraciones al sitio blanco y alteraciones a la permeabilidad lo que le otorgan resistencia a ciertos antibióticos tales como B-láctamicos, quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol y trimetropim (Mosquito, Ruiz, Bauer, & Ochoa, 2011), siendo este último el antibiótico presente en el medio de cultivo utilizado. Ruiz et al. (2018) analizaron un total de 138 muestras, 30 de carne de cerdo, 44 de carne de res y 64 de carne de pollo, identificando 830 bacterias, siendo 407 (49%) *E. coli*, estas cepas fueron sometidas a pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, los resultados obtenidos demostraron que las *E.coli* aisladas de las muestras de carne de pollo el 100% mostraron resistencia al cotrimoxazol, 90% fueron resistentes a la ampicilina y la tetraciclina, el 80% fue resistente a las quinolonas y el cloranfenicol, además que se encontraron *E. coli* productoras B-talactamasas de espectro extendido (BLEE) lo que podría deberse al uso inadecuado de los antibióticos en las avícolas.

Como muestra de la prevalencia de *E. coli* en la carne de pollo tenemos el experimento de Ramirez (2015), en donde recolectó 40 muestras dividiéndolas en dos grupos 20 muestras de partes de pollo y 20 muestras de pollo entero, realizó el preenriquecimiento de las muestras y las sembró en agar bilis rojo violeta, los niveles de prevalencia de *E. coli* fue del 55% concluyendo que existe una alta prevalencia de esta bacteria en la carne

de pollo destinada al consumo humano siendo la causante de la mayoría de casos de ETAs en el mundo, destacando que el pollo en partes presento más muestras positivas posiblemente porque al momento del fraccionamiento no existe una buena desinfección del área de trabajo.

Escherichia fergusonii

Figura 8. Información y secuencia ensamblada del genoma de la especie de la especie *E. fergusonii*

<p>Escherichia fergusonii cepa RHB18-C04 cromosoma, genoma completo</p>	<pre>> B580.31C-UTA ATTGAACGCTGGCGGCAGGCTAACACATGCAAGTGAACGGTAACAGGAATCAGCTTGCTGCTCGTGACGAGTGG CGGACGGGTGAGTAATGCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAACGGTAGCTAATACCGCATAA CGTCGCAAGACCAAGAGGGGGACCTCGGGCCCTTCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGTAGTAGTGGGG GTAAACGGCTACCTAGCGGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCCAGCCACTGGAATGAGACCGGTCCA GACTCCTACGGGAGGACGAGTGGGGAATTTGCACAATGGGGCAAGCCTGATGCAGCCATCCCGGTGATGAAG AAGGCCTCGGGTGTAAAGTACTTTACGGGGGAGGAGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCGG CAGAAGAAGCACCGGTAATCCGTCCAGCAGCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTAAGTGG CGTAAAGCGCACGAGGGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCGGGCTCAACTGGGAATCGATCTGATACTGG CAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGTAGAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATCGTAGAGATCTGGAGGAATAACGGT GGCGAAGGGGGCCCTTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATAACCTG GTAGCTCAGCGCGTAAAGGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTGAGGCGTGGCTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTGG ACCGCTGGGGAGTACGGCGCAAGGTTAAACTCAATGAATGACGGGGGGCCGCAAGCGGTGGAGCATGTG GTTTAATTCGATGCAACCGCAAGAACCTTACTGGTCTGACATCCAGGAAAGTTTCAGAGATGAGAAATGGCTTGG GGAAACCTGAGACAGGTGCTCATGGCTGTGTCAGCTGCTGTGTAATGTGGTTAAGTCCCGCAACGAGGCA ACCTTATCTTTGTCAGCGGTCGGGGGCAACTCAAGGAGACTCCAGTGAATAACTGGAGAAAGTGGGG ATGACGCAAGTCATCGGCCCTTACGACAGGGCTACACAGTGTACAAATGGCCATACAAAGAGGAGGACTC GCAGAGCAAGCGGACTCATAAAGTGGCTGTAGTCCGATGGAGTCTGCAACTGACTCCATGAAGTCGGAATCG CTAGTATCGTGGATCAGAATGCCAGGTGAATAGTTCGGGGCTTGTGACACACCGCCCTCACACCATGGGAGTG GGTTCAAAAGAAGTAGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACACTTTGTATTGATCAGTGGGGT</pre>
<p>GenBank: CP057681.1 Gráficas, táxis LOCUS CP057681 4571983 pb ADN circular BCT 13-MAY-2022 DEFINICIÓN Cromosoma completo de la cepa RHB18-C04 de <i>Escherichia fergusonii</i> genoma ADHESIÓN CP057681 VERSIÓN CP057681.1 DBLINK BioProyecto: PRINA605147 BioMuestra: SAMN15148152 PALABRAS CLAVE . FUENTE <i>Escherichia fergusonii</i> ORGANISMO Escherichia fergusonii bacterias; pseudomonadota; gammaproteobacteria; enterobacterias; enterobacterias; <i>Escherichia</i>.</p>	

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, está presente en el sistema digestivo de humanos y animales en forma comensal o patógena, esta bacteria es responsable de causar infecciones del tracto urinario, infecciones a nivel de la piel y diarrea en las personas, en el laboratorio se caracteriza por ser Gram negativa, bacilo corto, anaerobio facultativo, catalasa positiva, oxidasa negativa, posee movilidad, no es capaz de fermentar lactosa y sorbitol, crece en cualquier medio de cultivo (Vanegas, López, Becerra, Colin, & Cendejas, 2020)

Es muy resistente a los diferentes antimicrobianos como la ampicilina, estreptomycinina y tetraciclina por lo cual es difícil tratar las infecciones producidas por este patógeno. Debido a que es una bacteria emergente en medicina veterinaria existen pocas investigaciones, uno de estos estudios fue realizado por Soares (2018), en el cual obtuvo

muestras de aves tanto silvestres como domésticas, tomando 168 muestras de las aves salvajes realizando hisopados de la cloaca y de la orofaringe encontrando solo 2 cepas de *E. fergusonii*, en cuanto a las aves domésticas se estudiaron 215 muestras fecales obteniendo 22 cepas de *E. fergusonii*.

Factores de virulencia de las bacterias identificadas

Tabla 14. Extensión del genoma y GC% de las bacterias identificadas

Bacterias	Tamaño del genoma (Mb)	GC%
<i>E. faecalis</i>	2.96381	37,4
<i>E. gallinarum</i>	3.36559	40,4
<i>A. Veronii</i>	4.59366	58,6
<i>E. coli</i>	5.11174	50,6
<i>E. fergusonii</i>	4.78444	49,8

En la Tabla 14 se presentan los porcentajes de Guanina y Citosina de las bacterias identificadas en el presente estudio, cabe destacar que la unión guanina citosina se produce por tres puentes de hidrogeno lo que le confiere estabilidad a la bacteria mientras más alto sea el porcentaje, más resistente es a la desnaturalización por la temperatura, mientras más resistente la bacteria su nivel de patogenicidad también se eleva.

En el presente estudio *A.veronii* se consideraría como la más patógena de todas las bacterias aisladas al tener un 58,6% de GC, según Castro et al. (2002) las *Aeromonas* tienen varios factores de virulencia los cuales son:

- La presencia de cápsula

- La capa S es una estructura proteica que es muy importante porque ayuda en la unión de la bacteria con los componentes de la célula del huésped, además de otorgarle resistencia frente a los mecanismos del complemento.
- Los lipopolisacáridos (LPS) reconocidos en 97 serogrupos que se han detectado en bacterias causantes de infecciones sistémicas y gastroenteritis.
- El Pili en el caso de *A. veronii* posee un pili de tipo IV que le permite adherirse de mejor manera a la célula huésped facilitando el proceso de colonización.
- Las proteínas de membrana externa (OMP)
- La producción de enzimas extracelulares, estas permiten la identificación de la bacteria
- Las hemolisinas generalmente se asocian con la generación de las gastroenteritis, se caracterizan por formar poros en la célula huésped.
- Las enterotoxinas citotónicas que producen elongación de la célula, pero no lisis.
- Las proteasas que se encargan de degradar de diferentes compuestos de las células como la albumina, fibrina, entre otros.
- Las lipasas que actúan sobre los lípidos de membrana de las células huésped.

Dos de las bacterias obtenidas en el estudio pertenecen al género *Enterococcus* siendo esta *E. faecalis* y *E. gallinarum* que tienen 37,4 y 40,4% de guanina y citosina respectivamente, a continuación se describen sus factores de virulencia de acuerdo a Caraffini et al. (2009) son:

- Sustancia de agregación (AS): que aumenta la adherencia de estas bacterias a los macrófagos, ayuda a la potenciación de la conjugación de plásmidos y a la unión en los tejidos huésped.
- Hemolisina: es importante al inicio de la infección ya que ayuda en la penetración de la bacteria en el sistema gastrointestinal de humanos y animales.
- Gelatinasa: esta enzima en conjunto con las feromonas quimiotácticas modifican y disminuyen las células de defensa del hospedero

3.3. Factores de riesgo relacionados con la contaminación de la carne de pollo

Para poder evaluar los factores de riesgos asociados a la contaminación de la carne de pollo de las distintas plantas de faenamiento se tomaron en cuenta distintas variables especificados en la Tabla 10, a continuación, se observan los resultados obtenidos en la Tabla 15.

Tabla 15. Resultados de la ficha de observación

Variables evaluadas	PLANTAS DE FAENAMIENTO								
	PF1	PF2	PF3	PF4	PF5	PF6	PF7	PF8	PF9
Seguridad sanitaria de la canal	2	1	2	1	1	2	2	2	2
Sanidad de los camales	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Capacitación del personal	1	0	1	1	1	1	1	1	2
Seguridad sanitaria del personal	1	0	2	1	1	2	1	1	2
Zona de espera	2	1	2	1	1	2	2	2	2
Área de escaldado	1	0	1	1	1	1	1	1	2
Desplumado	1	1	1	1	0	1	1	1	2
Proceso de eviscerado	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Enfriamiento	1	0	1	0	1	1	1	1	2
Lavado	1	0	1	0	0	1	0	1	2
Inocuidad de la canal	0	0	1	1	1	1	0	0	2
Total	12	5	14	9	9	14	11	12	22

*PF= planta de faenamiento.

Nota. Donde 0 fue categorizado como malo, 1 como regular y 2 como bueno

Para determinar si existe dependencia entre los factores de riesgo y la contaminación de la carne de pollo de acuerdo a las diferentes variables analizadas se sometieron los resultados obtenidos de las fichas de observación a la prueba Gamma, tomando en cuenta que un valor de $P < 0,05$ es estadísticamente significativo, en la Tabla 16 se muestran los resultados.

Variables evaluadas	Calificación			Valor de P
	1 (%)	2 (%)	3 (%)	
Seguridad sanitaria de la canal	66.7	33.3	0	0.009
Sanidad de los camales	11.1	88.9	0	0.001
Capacitación del personal	11.1	77.8	11.1	0.000
Seguridad sanitaria del personal	33.3	55.6	11.1	0.002
Zona de espera	66.7	33.3	0	0.506
Área de escaldado	11.1	77.8	11.1	0.000
Desplumado	11.1	77.8	11.1	0.000
Proceso de eviscerado	11.1	88.9	0	0.009
Enfriamiento	11.1	44.4	44.4	0.070
Lavado	11.1	66.7	22.2	0.011
Inocuidad de la canal	11.1	44.4	44.4	0.000
N° de casos válidos	45			

Los resultados de la calificación están expresados en porcentaje

Nota. Donde 0 fue categorizado como malo, 1 como regular y 2 como bueno

Con un valor significativo del 0,009 existe una dependencia entre la contaminación de la carne de pollo y la seguridad sanitaria de la canal, aquí se evaluó la disponibilidad y el

tratamiento de agua potable en las plantas de faenamiento, coincidiendo con lo dicho por (Núñez, 2020) que determinó que la calidad del producto final depende mucho de la calidad sanitaria del agua ya que esta arrastra con todos los microorganismos presentes en el cuerpo de las aves provocando una contaminación cruzada, el ácido acético es ampliamente usado para reducir la carga bacteriana en el agua, además González (2004), menciona que el agua del escaldado y de la insensibilizadora deben ser renovadas constantemente para evitar la contaminación por coliformes o *enterococcus* por contaminación fecal. Una de las bacterias aisladas en el presente estudio fue la *Aeromona veronii*, según Castro et al. (2002) el agua es el principal reservorio de esta bacteria por lo cual es de gran importancia que las plantas de faenamiento tengan un adecuado manejo de la misma desinfectándola adecuadamente para evitar la contaminación de las canales al utilizar agua no tratada correctamente. Por otra parte, Ajata (2021), en su estudio tomó 3 muestras del agua utilizada en diferentes puntos del proceso de faenamiento aislando *E. coli* tanto en la zona de lavado como en el escaldado, pero reduciendo su presencia en el agua tratada, con los resultados demostró que existe una disminución de la carga bacteriana después de tratar el agua con el ácido acético.

Al obtener un valor de significancia del 0,001 se comprueba que la calidad microbiológica es dependiente de la sanidad de los canales, aquí se evaluó la ubicación y el control de especies faenadas en la planta de faenamiento.

Un valor de significancia del 0,00 indica que la contaminación de la carne de pollo depende de la capacitación del personal, esto concuerda con el análisis de Uscategui (2020), en donde estableció que para disminuir los peligros y la contaminación en las plantas faenadoras el personal debe tener un amplio conocimiento de los procesos que debe realizar en las distintas zonas establecidas en la planta de faenamiento siendo el punto más crítico la limpieza y el mantenimiento constante de las maquinarias y herramientas utilizadas en cada etapas especialmente de la insensibilizadora y la escaldadora que necesitan la renovación del agua constante para disminuir la contaminación cruzada de enterobacterias, enterococos o coliformes. Del mismo modo Canet et al. (2018) mencionan que la capacitación del personal debe ser constante no solo

para evitar la contaminación de la carne de pollo sino para acelerar el proceso de faenamiento y cuidar de su propia integridad, mientras más experiencias gane el trabajador podrá desempeñar mejor las actividades que se le han sido encomendadas. Además, deben estar completamente conscientes de las consecuencias que produce la contaminación del producto final por una mala manipulación.

Un valor de significancia del 0,002 indica que la contaminación de la carne de pollo depende de la seguridad sanitaria del personal, aquí se evaluó principalmente la indumentaria, esto coincide con lo mencionado por Canet et al. (2018) quienes afirman que el personal debe tener una vestimenta adecuada y exclusiva para sus actividades dentro de las faenadoras para cuidar su propia integridad, al mismo tiempo que se evita la contaminación del exterior, dicha indumentaria consta de gorra, guantes, mascarilla, overol, mameluco, delantal impermeable y botas los cuales deben mantenerse limpios y conservarse en buen estado

Al obtener un valor estadístico de 0,506 se observa que no existe dependencia entre la contaminación de la carne de pollo y el control de la zona de espera, en donde se evaluó si este lugar está bien delimitado en las áreas de recepción, zona limpia y zona sucia además si existe un registro de los animales sacrificados y sus respectivas guías de movilización. Esto concuerda con Uscategui (2020), quien menciona que a pesar que existe cierta contaminación en la zona de espera estos microorganismos son eliminados por los siguientes procesos de faenamiento, sin embargo, el mismo autor recomienda que se deben separar las aves muertas y mantener una limpieza constante como medida preventiva. Por el contrario, en la investigación de Luces et al. (2007) en la zona de espera encontró bacterias tales como *E.coli*, *Listeria monocytigenes*, *P. aeurginosa* y *Bacillus aerus* que posiblemente provengan del aleteo de las plumas de las aves, de una contaminación por parte del personal o por el ambiente exterior, además la autora encontró alta prevalencia de *E. coli* en esta zona debido a la contaminación fecal.

Con un valor significativo de 0,000 indica que la contaminación de la carne de pollo depende del proceso de escaldado, la variable evaluada fue la temperatura del agua y el tiempo que dura el escaldado, según Uscategui (2020), el agua del escaldado debe estar siempre monitoreada manteniéndola entre los 50 a 60°C si se encuentra por debajo de este rango los microorganismos pueden sobrevivir y permanecer hasta finalizar con el proceso de faenamiento, adicionalmente Ricaurte (2005), menciona que antes de entrar al proceso del escaldado se debe verificar que las aves estén muertas caso contrario si siguen vivas provoca que el agua ingrese y contamine la tráquea, el esófago, los pulmones, los sacos aéreos y la molleja, además conforme se va movilizandó la canal se produce contaminación del resto del ave. Por su parte, Pérez (2015) indica que en el escaldado se da una contaminación cruzada ya que en el agua se sumergen todas las aves dejando los microorganismos presentes en sus plumas, pies y contenido fecal por lo cual se han aislado bacterias tales como *Salmonella*, *Pseudomona*, *Clostridium*, *Proteus*, *Estafilococos*, *Enterococcus* entre otros en canales después del escaldado.

De acuerdo al valor estadístico de 0,137 que no es significativo, por lo tanto, la contaminación del producto final no depende del desplumado, aquí se evaluó si se usa el desplumado manual o mecánico, en contraste Castadeña et al. (2013) encontraron que en el desplumado mecánico los dedos de goma que se usan ayudan a la distribución de los microorganismos que son favorecidos por la presencia de humedad y calor de las canales. Es importante mencionar que los dedos de goma deben ser de buena calidad caso contrario se desgastan fácilmente dificultando su mantenimiento y limpieza lo que ocasiona mayor crecimiento bacteriano. De acuerdo a Uscategui (2020) en esta etapa puede ocurrir contaminación fecal y se han aislado bacterias como *E.coli*, *Pseudomona*, *Campylobacter spp*, *Clostridium* y *Salmonella*.

Con un valor significativo de 0,009 la contaminación de la carne de pollo depende de la etapa de eviscerado, aquí se evaluó como se llevaba a cabo el lavado de las vísceras, este es considerado el paso más crítico de todo el faenado sin importar que el proceso se realice manualmente o con máquinas evisceradoras los microorganismos se transfieren a la canal por la exposición del tracto intestinal Castadeña et al. (2013) consideran que la

evisceración mecánica es mejor debido a que la manual puede provocar mayor contaminación por la manipulación de las aves con las manos de los operarios, cabe recalcar que los utensilios utilizados deben lavarse adecuadamente en cada rotación. Nunes (2015) establece que la contaminación se produce en diferentes momentos como en el corte de la cloaca, la incisión en el abdomen, el retiro del buche y las vísceras. Uscategui (2020) en su estudio encontró que después del eviscerado existe un alto conteo de microorganismos patógenos tales como *coliformes*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Estafilococos* y *Pseudomonas*,

Al obtener un valor significativo de 0,011, la contaminación de la carne de pollo depende del enfriado, debido a que la refrigeración ayuda a reducir la cantidad de microorganismos deteniendo el crecimiento bacteriano. Uscategui (2020), describe dos tipos de enfriamiento uno por inmersión y el otro por aire, siendo el primero el método más usado alrededor del mundo y consiste en sumergir la canal en un tanque con agua fría en las primeras 2 horas posterior al sacrificio, este proceso consta de dos etapas comenzando con el pre enfriamiento donde se sumerge al pollo en un tanque con una temperatura de 12°C con el objetivo de lavar la contaminación que tienen las canales, después se dirigen al chiller que está a una temperatura de 4°C para detener la proliferación bacteriana, el mismo autor confirma que este proceso se considera un punto crítico que sin el control adecuado de la temperatura provoca un porcentaje mayor de bacterias patógenas en la carne de pollo tales como la *Salmonella*, coliformes totales y bacterias de origen fecal, un factor que influye en el resultado de este proceso es la renovación y temperatura del agua además de la cantidad de cloro si esta llega a excederse causa daño en la calidad del producto final.

Finalmente se obtuvo un valor significativo de 0,000 para la inocuidad de la canal lo que hace que la calidad microbiológica de la carne de pollo dependa de esta variable, se evaluó la frecuencia del lavado de los materiales utilizados durante el faenamiento, además de comprobar que sean de acero inoxidable. Ricaurte (2005) afirma que es de gran

importancia lavar constantemente los utensillos utilizados en el faenamiento con el fin de reducir la contaminación cruzada.

Romero (2010) menciona que la inocuidad de los alimentos tiene como objetivo la implementación de buenas prácticas de manejo y la implementación de condiciones que colaboren con la disminución de la contaminación cruzada por patógenos para reducir los casos de zoonosis por consumo de carne contaminada, en un registro global la industria avícola es la principal causante de la infección de humanos por *E. coli* y *Salmonella*

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se cumple con la hipótesis nula porque no se identificó *Campylobacter spp.* de ninguna de las plantas de faenamiento en estudio.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Mediante el uso de pruebas morfológicas y bioquímicas tales como crecimiento a 42° en 48 horas en un medio selectivo, catalasa, oxidasa, tinción Gram y motilidad se identificaron que 14 (31,11%) de las 45 muestras se consideraron posibles *Campylobacter spp.*
- De las 14 candidatas 8 fueron identificadas molecularmente y ninguna fue positiva a *Campylobacter spp* por lo cual la frecuencia en las plantas de faenamiento que suministran al cantón Ambato es de un cero por ciento, por el contrario, las bacterias que se identificaron fueron *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Aeromonas veronii*, *Escherichia coli* y *Escherichia fergusonii*.
- Las bacterias aisladas e identificadas en la carne de pollo representan un peligro para la salud pública debido al potencial patógeno que posee cada una, para evitar la contaminación cruzada del producto final las plantas de faenamiento deben cumplir con un programa higiénico sanitario durante todas las etapas del sacrificio de las aves, especialmente durante el proceso de eviscerado.

4.2.Recomendaciones

- Utilizar otro medio selectivo para *Campylobacter spp.* que contenga antibióticos de amplio espectro que faciliten el crecimiento de *Campylobacter spp.* y eviten el crecimiento de otras Gram negativas y Gram positivas.
- Incluir otras pruebas bioquímicas que ayuden a una identificación más precisa de *Campylobacter spp.* tales como la prueba de hidrolisis del hipurato, la de reducción de nitratos o la prueba del indoxil acetato.
- Realizar la toma de muestras en el proceso de transportación de las muestras hasta los puntos de venta para identificar si existe contaminación de *Campylobacter spp.* en esta etapa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCALIDAD. (2018). *Manual de procedimiento para la vigilancia y control de la inspección ante y post-mortem de animales de abasto en mataderos*. Ecuador: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/fae3.pdf>.
- Ajata, L. (2021). *Evaluación de la calidad microbiológica del agua y canales durante la cosecha de pollos en el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola de Zamorano (CIEAZ)*. [Proyecto de graduación, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano], Repositorio Institucional: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/ce1cb938-7335-4ad3-97db-3398b0c15d36/content>.
- Arthur, M., & Quintiliani, R. (2001). Regulación de la resistencia a glicopéptidos tipo VanA y VanB en enterococos. *Quimioterapia de agentes antimicrobianos. febrero; 45(2):* , 375–381. DOI: 10.1128/AAC.45.2.375-381.2001.
- Borges, A., Souza, N., Silva, P., & Santana, Â. (2013). Antimicrobial Resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from poultry carcasses. *Animais de Produção Pesq. Vet. Bras, 33 (5)* , <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500004>.
- Bravo, L., Cabrera, L., Ramirez, M., Hernández, A., Perez, J., & Fernández, G. B. (2007). Resistencia antimicrobiana en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de pacientes con bacteriemia. *Rev Biomed, 18*, 176-181.
- Canet, Z., Cantaro, H., Almada, N., Ruiz, P., & Gange, J. (2018). *Guía de buenas prácticas para el uso y construcción del faenador de aves INTA*. Argentina: INTA.
- Caraffini, A., Nobile, C., Figueroa, M., Vargas, M., & María, T. (2009). Factores de virulencia de *enterococcus* spp. y su relación con la resistencia a antibióticos. *Bioquímica y Patología Clínica, 73(3)* , 34-39 <https://www.redalyc.org/pdf/651/65121026004.pdf>.
- Carvajal, N. (2020). *Movilidad bacteriana*. España: Universidad de Málaga. Recuperado de: <https://www.studocu.com/es/document/universidad-de-malaga/fundamentos-de-microbiologia/movilidad-bacteriana/10564518>.
- Castadeña, M., Braña, D., Cortés, C., & Martínez, W. (2013). *Calidad microbiológica de la carne de pollo*. México: INIFAP.

- Castro, G., Guadalupe, A., Silvia, G., Hernández, H., Rodríguez, M., Soler, L., . . . Figueras, M. (2002). El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México? *ENF INFECC Y MICRO*, 22(4), 206-216.
- Ceniceros, R., Hernández, G., Sandoval, V., Medina, C., & Ramos, M. (2016). Presencia de *Campylobacter* y *Salmonella* en pollo a la venta en Gómez Palacio Durango, México. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 17(6), 2016, 1-7 .
- Checa, A. (2020). *Método: Gel de electroforesis Agarosa*. Recuperado de: <https://conogasi.org/articulos/metodo-gel-de-electroforesis-agarosa/>. Obtenido de <https://conogasi.org/articulos/metodo-gel-de-electroforesis-agarosa/>
- Christian, J., Bryan, F., Silliker, J., Goepfert, J., & Baird, A. (2001). *El Sistema de analisis de riesgos y puntos criticos: su aplicacion a las industrias de alimentos* . Zaragoza-España : ACRIBIA .
- Cortez, A., Carvalho, A., Scarcelli, E., Miyashiro, S., Vidal, A., & Burger, K. (2006). Survey of chicken abattoir for the presence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Rev. Padre. Inst. Medicina. demasiado. S. Paul*, 48(6), 307-310 Doi: 10.1590/s0036-46652006000600001.
- Decap, S. (2008). *Seguimiento y caracterización de Campylobacter jejuni en las etapas de eviscerado y enfriado de dos plantas faenadoras de pollos broiler* . [Tesis de grado, Universidad de Chile], Repositorio Institucional: [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130950/Seguimiento-y-caracterizaci% c3% b3n-de-Campylobacter-jejuni-en-las-etapas-de-eviscerado-% 20y-enfriado-en-dos-plantas-faenadoras-de-pollos-Broiler.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130950/Seguimiento-y-caracterizaci%c3%b3n-de-Campylobacter-jejuni-en-las-etapas-de-eviscerado-%20y-enfriado-en-dos-plantas-faenadoras-de-pollos-Broiler.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Díaz, M., Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2013). Enterococcus, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Rev Cubana Hig Epidemiol*, 51(1), 97-110.
- Dios, T. d., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*, 2(2) , 70-78.
- Dota, C. (2017). *Resistencia de antibióticos de uso veterinario en Enterobacterias y Campylobacter aislados de pollos faenados expendidos en el Mercado "El Arenal" de Cuenca* . [Tesis de grado, Universidad de Azuay], Repositorio Institucional : <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/7556/1/13438.pdf>.

- Faúndez, F. (2018). *Detección de Escherichia coli O157 H7 y Campylobacter jejuni en canales de bovinos en faenadoras de la región del Bio Bio*. [Tesis de posgrado, Universidad de Concepción], Repositorio Institucional: <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/3367>.
- Fernández, A., García, C., Saéz, A., & Valdezate, S. (2010). *Procedimientos en microbiología clínica* . España : SEIMC.
- Figuroa, A. (2006). *Presencia de Campylobacter jejuni en carne de ave congelada en una planta procesadora de la región metropolitana*. [Tesis de grado, Universidad de Chile], Repositorio Institucional: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130871>.
- Forbes, B., Sahm, D., & Weissfeld, A. (2009). *Bayley & Scott Diagnóstico Microbiológico (12va ed.)*. Buenos Aires-Argentina : Editorial Médica Panamericana, 416-420.
- GAD Cevallos. (2011). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Cevallos*. Obtenido de <https://cevallos.gob.ec/index.php/municipio/informacion-municipal/base-legal/category/170-plan-de-ordenamiento-y-desarrollo-territorial-pdot?download=609:pd-y-ot-cevallos>
- Galárraga, A. (2014). *Aislamiento e identificación de Campylobacter spp. en ciegos de pollos faenados en mataderos industriales de la Provincia de Pichincha*. [Trabajo de grado, Universidad Central del Ecuador], Repositorio Institucional: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6606>.
- García, C. (2020). Campylobacter: emergente o reemergente. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*, 67 (3), 142-149.
- Giacoboni, G., López, C., Tellechea, D., & Agostini, A. (2002). Campylobacter jejuni en una granja de pollos camperos. *ANALECTA VETERINARIA* 22(2), 42-47.
- Giacoboni, G., Puchuri, & Cerdá, M. (1999). Campylobacter termotolerantes en menudos y carcasas de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de La Plata (Argentina). *ANALECTA VETERINARIA*, 19(1) , 51-54.
- Giraldi, C. (2014). *Enterococcus aislados de alimentos: caracterização molecular e perfil de resistência a antimicrobianos*. [Tesis de grado Universidad Tecnológica Federal del Paraná], Repositorio Institucional: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1136>.

- González, I. (2004). *Aeromonas* sp.: patógenos emergentes a considerar en aguas. *Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente*, 4(6), 1-9.
- Gutiérrez, O. (2004). *Diagnóstico de Campylobacter jejuni en cerdos de abasto a faenarse en el rastro CECARSA a través de cultivos de hisopados rectales*. [Tesis de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala], Repositorio Institucional: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/7225/>.
- Gutiérrez, R., Osorio, G., & García, V. (2015). *Campylobacter* spp. in poultry products and its impact in public health. *Rev CES Med Zootec*, 10(2), 203-213.
- Herrera, M., Vargas, Á., & Campos, M. (1998). Aislamientos de *Enterococcus* spp., resistentes a la vancomicina, en muestras de heces de niños costarricenses. *Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)*, 33(1-2), 29-38.
- HIMEDIA. (2022). *Campylobacter Agar Base*. Obtenido de <https://himedialabs.com/TD/M994.pdf>
- Janon, D. d. (2016). *Determinación fenotípica de cepas de Escherichia coli resistente a betalactámicos, por la técnica de doble disco, en pollos faenados en seis camales industriales de la provincia de pichincha*. [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador], Repositorio institucional: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10230/1/T-UCE-0014-020-2016.pdf>.
- Lemcke, R., & Bulte, T. (2001). *Ocorrência de genes resistentes à vancomicina vana, vanb, vanc1, vanc2 and vanc3 em enterococos isolados de aves e suíno*. Brasil: 2º Congreso Internacional Virtual de Calidad Porcina.
- López, E. (2004). *Frecuencia de Campylobacter spp. en muestras de heces de humanos y carne de pollo, puerco y res en tres núcleos poblacionales de la ciudad de San Luis Potosí, 2003*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma de San Luis Potosí], Repositorio Institucional: <http://ninive.uaslp.mx/xmlui/handle/i/2017>.
- López, L., Hernández, M., & Colín, C. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *investigación en discapacidad*, 3(1), 10-18.
- López, V., Guerriero, L., Elorza, V., Krüger, A., Colello, R., & Medici. (2021). Resistencia a antimicrobianos en bacterias aisladas en la cadena de producción avícola. *InVet 2021*, 23 (2), 1-8.
- Loughlin, J., Samuelson, D., Braundmeier, A., White, B., Haldorson, G., Stone, J., . . . Konkel, M. (2015). The Intestinal Microbiota Influences *Campylobacter jejuni*

- Colonization and Extraintestinal Dissemination in Mice. *ASM Journals*, 81(14), <https://doi.org/10.1128/AEM.00281-15>.
- Lucas, J., Vilca, M., & Ramos, D. (2013). Presencia de campylobacter spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. *Rev. investig. vet. Perú*, 24(3) , 346-352.
- Lucas, M., Theron, N., Venter, P., & Rasephei, R. (2007). Microbial Composition in bioaerosols of high-throughput chicken . *Poult. sci*, 82, 142-149 .
- Martínez, T., & Mora, D. (2010). Conocimientos y opiniones sobre la carne de pollo de dos comunidades rural-urbana de Costa Rica. *Rev Costarr Salud Pública*,19(1), 3-11 .
- Moposita, F. (2017). *Identificación de bacterias, microalgas y hongos termófilos de la fuente geotermal “Chachimiro” mediante técnicas microbiológicas y moleculares*. [Tesis de maestría, Universidad de las Fuerzas Armadas], Repositorio Institucional : <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/13127>.
- Morales, O. (2004). *Diagnóstico de Campylobacter jejuni en cerdos de abasto a faenarse en el rastro CECARSA a través de cultivos de hisopados rectales*. [Tesis de grado,Universidad de San Carlos de Guatemala], Repositorio Institucional: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/7225/>.
- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J., & Ochoa, T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en escherichia coli asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 28(4), 648-56.
- Nagar, V., Shashidhar, R., & Bandekar, J. (2011). Prevalence, Characterization, and Antimicrobial Resistance of Aeromonas Strains from Various Retail Food Products in Mumbai, India. *Journal Food Science*, 76, 486-492. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02303.x>.
- Novachem. (2022). *Agua peptonada tamponada* . Obtenido de <https://www.novachem.com.ec/producto/agua-de-peptona/>
- Nunes, F. (2015). *Control de patógenos en la planta de procesamiento*. Recuperado de : <https://www.elsitioavicola.com/articles/2802/control-de-patagenos-en-la-planta-de-procesamiento/>.
- Núñez, R. (2020). *Importancia actual del Género Enterococcus spp. en los alimentos y metodologías para su caracterización molecular*. (Tesis de masteraso,

- Universidad de Zaragoza), Repositorio Institucional :
<https://zaguan.unizar.es/record/96275/files/TAZ-TFM-2020-937.pdf>.
- Ono, K., & Yamamoto, K. (1999). Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *International Journal of Food Microbiology* 47 , 211–219, DOI: S0168-1605(99)00015-X.
- Paguanquiza, L. (2016). *Genotipificación del gen Flagelar A en Campylobacter jejuni provenientes de los procesos de faenamiento industrial de pollos broiler*. (Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador), Repositorio Institucional - Universidad Central del Ecuador :
<http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/11620/1/T-UCE-0014-034-2016.pdf>.
- Pérez, I. (2015). *Calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo con especial referencia a la incidencia de Salmonella*. (Tesis doctoral, Universidad de la Roja):
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/46794.pdf>.
- Poma, S. (2014). *Aislamiento y tipificación molecular de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en contenido cecal de pollos faenados en camales industriales en la provincia de Pichincha*. [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador], Repositorio Institucional:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6610>.
- Ramirez, W. (2015). *Prevalencia y cuantificación de Salmonella spp y Escherichia coli en carne de pollo a la venta en Tegucigalpa*. (Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano), Repositorio Institucional :
<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/936afd05-87a5-4c84-88c9-154a0e8da570/content>.
- Ricaurte, S. (2005). Problemas del pollo de engorde antes y después del beneficio. *REDVET*, 6(6), junio, 2005, 1-16.
- Rivera, J., Marin, P., Martínez, C., J. O., Jordán, M., Escudero, E., & Cubero, M. (2021). Resistencia antimicrobiana de aislados comensales de *Campylobacter jejuni* , *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* de granjas de gallinas ponedoras en España. *Animales*, 11(5), 1283, DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11051284>.
- Rojas, X., Rojas, Y., Soto, L., Delgado, D., & Hernández, F. (1996). *Campylobacter* sp. en pollos para el consumo humano . *Rev. Cost de Ciencias Médicas*, 17(1), 34-39.

- Romero, J. (2010). *Sistemas de gestión de la inocuidad en plantas de beneficio y procesamiento de aves*. Colombia : ACTA.
- Rossi, O., Amaral, L., Filho, A., & Lopes, T. (2006). Bacterias do género *Aeromonas* em carne mecanicamente separada de origem avícola. *RPCV,101(559-560)*, 253-25.
- Ruiz, L., Martínez, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., . . . Pons, M. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae multiresistentes y *Escherichia antimicrobianos* en carne de pollo comprado en mercados tradicionales en Lima . *Rev Perú Med Exp Salud Pública,35(3)*, 425-432. DOI:10.17843/rpmpesp.2018.353.3737.
- Sifaw, K., Ahmed, S., Cappuccinell, P., & Klena, J. (2014). Genospecies and virulence factors of *Aeromonas* Genospecies and virulence factors of *Aeromonas*. *Lybian J Med ,9 (1)* , <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3402/ljm.v9.25497>.
- Soares, L. (2018). *Resistência e virulência de cepas de Escherichia fergusonii isoladas de aves comerciais e silvestres*. [Tesis de posgrado,Universidad de Sao Pablo]. Repositorio Institucional : <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10133/tde-13112018-110537/pt-br.php>.
- TMMedia. (2014). *Agar Tripticosa de soya*. <https://labsupply.com.ec/producto/agar-tripticosa-soya/>.
- Togneri, A., Lopardo, H., & Corso, A. (2003). Bacteremia por *Enterococcus gallinarum* con alto nivel de resistencia a glicopeptidos: primer caso documentado en Argentina . *Revista Argentina de Microbiología, 35*, 96-99.
- Torralbo, A. (2013). *Campylobacter spp. en granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana*. [Tesis doctoral, Universidad de Córdoba]. Recuperado de : <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/11089>.
- Ugarte, M. (2015). *Detección y caracterización de Campylobacter procedentes de animales, alimentos y agua residual*. [Tesis doctoral-Universidad Complutense de Madrid]. Recuperado de : <https://www.visavet.es/data/tesis/deteccion-caracterizacion-campylobacter-procedentes-animales-alimentos-agua-residual.pdf>.
- Uscategui, M. (2020). *Análisis de peligros, en el procesamiento de canales para carne de pollo en la planta de beneficio Portachuelo, Vereda Caballito Santander*. [tesis de grado, Universidad de Pamplona], Repositorio Institucional:

http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/4303/1/Uscategui_2020_TG.pdf.

- Valenzuela, R. (2019). *Evaluación de Campylobacter spp. en carne y vísceras de cerdo y pollo por diferentes métodos microbiológicos y moleculares*. [Trabajo de Máster, Universidad Politécnica de Valencia], Repositorio Institucional: <http://hdl.handle.net/10251/129694>.
- Vanegas, É., López, L., Becerra, N., Colin, C., & Cendejas, R. (2020). Escherichia fergusonii en un paciente con amputación traumática del miembro pélvico derecho. *Cir Cir*, 88(1), 51-53. DOI: 10.24875/CIRU.20001455. PMID: 32963402.
- Villacís, K., Granda, E., & Irazabal, J. (2020). *Determinación del perfil de sensibilidad antibiótica en Escherichia coli y Salmonella spp. aisladas de carne aviar en el Ecuador*. [Tesis de grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador], Repositorio Institucional: <http://repositorio.puce.edu.ec:80/handle/22000/18532>.
- Zumbado, L., Arévalo, A., Pilar, M. d., & Romero, J. (2014). Diagnóstico molecular de Campylobacter en la cadena avícola destinada para consumo humano en Costa Rica. *Agron. Mesoam*. 25(2), 357-363.

ANEXOS

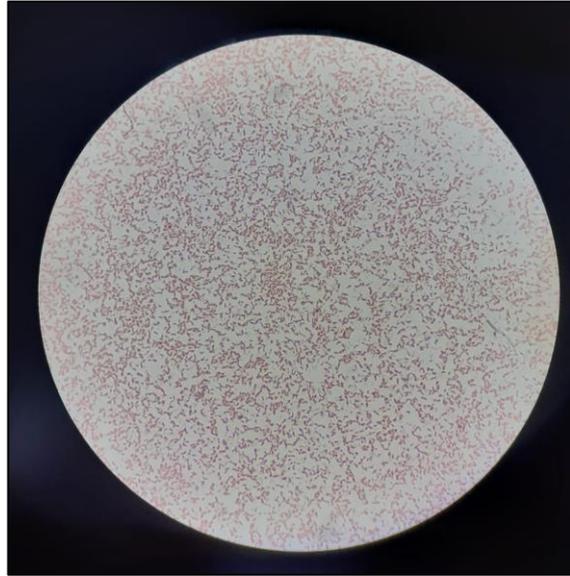
Anexo 1. Corte en las muestras de carne de pollo



Anexo 2. Crecimiento positivo en el *Campylobacter* Agar base



Anexo 3. Tinción Gram negativa



Anexo 4. Pruebas catalasas positivas



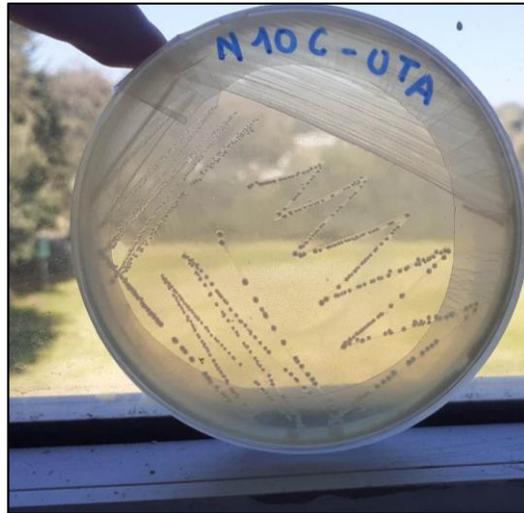
Anexo 5. Pruebas oxidasas positivas



Anexo 6. Realización de la prueba de motilidad



Anexo 7. Colonias aisladas en Agar Tripticasa de Soya



Anexo 8. Criopreservación

