Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

Determinación de la concentración mínima inhibitoria de azitromicina, eritromicina, tetraciclina y ciprofloxacina en cepas de *Campylobacter coli* aislada de carne de pollo en mercados de Lima Metropolitana

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Kiara Nelida CÁCERES BAUTISTA

ASESOR

Dr. César Aquiles LÁZARO DE LA TORRE

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cáceres K. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de azitromicina, eritromicina, tetraciclina y ciprofloxacina en cepas de Campylobacter coli aislada de carne de pollo en mercados de Lima Metropolitana [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Kiara Nelida Cáceres Bautista
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	75503719
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0006-1095-0837
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	César Aquiles Lázaro de la Torre
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40628304
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4856-0034
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Sonia Yenny Calle Espinoza
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10321145
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Joel André Palomino Farfán
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	46238101
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Jimny Yoel Núñez Delgado
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	44411070
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.1.2 Farmacología y Toxicología Veterinaria
Grupo de investigación	Grupo de Investigación en Farmacología y Toxicología Veterinaria (GIFTV)
Agencia de financiamiento	- CONCYTEC- FONDECYT en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica 2019-01 (número de contrato 405-2019). - Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Proyecto interdisciplinario RR N° 009412-2021-UNMSM con código de proyecto A2108001i y Equipamiento científico para investigación RR N° 010099-2023R/UNMSM con código de proyecto A230809881e y A230809990e.
Ubicación geográfica de la investigación	Lugar: Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.0817241 Longitud: -76.9898962
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2022 - 2023
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.00 Salud pública, salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **jueves 28 de diciembre de 2023**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral **Nº 0264-EPMV/FMV-2023**, integrado por los siguientes profesores:

Blga. Mg. CALLE ESPINOZA SONIA YENNY	**Presidente del Jurado**
MV. Dr. LAZARO DE LA TORRE CÉSAR AQUILES	**Asesor de la Tesis**
MV. Dr. NUÑEZ DELGADO JIMNY YOEL	**Miembro del Jurado**
MV. Mg PALOMINO FARFÁN JOEL ANDRÉ	**Miembro del Jurado**

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **KIARA NELIDA CÁCERES BAUTISTA,** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

"DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE AZITROMICINA, ERITROMICINA, TETRACICLINA Y CIPROFLOXACINA EN CEPAS DE *Campylobacter coli* AISLADA DE CARNE DE POLLO EN MERCADOS DE LIMA METROPOLITANA"

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **dieciocho (18).**

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las 13:30 horas, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

UNMSM
Firmado digitalmente por CALLE ESPINOZA DE CAMACHO Sonia Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.01.2024 13:46:47 -05:00

Calle Espinoza Sonia Yenny Blga. Mg. Prof. Principal DE

Lázaro de la Torre César Aquiles MV. Dr. Prof. Asociado DE

UNMSM
Firmado digitalmente por NUÑEZ DELGADO Jimny Yoel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.01.2024 12:40:54 -05:00

Núñez Delgado Jimny Yoel MV. Dr. Prof. Auxiliar TC

Palomino Farfán Joel André MV. Mg Prof. Auxiliar TC

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo M.V. César Aquiles Lázaro De La Torre en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 0215-EPMV/FMV-2022 de la tesis de investigación/trabajo académico, cuyo título es "Determinación de la concentración mínima inhibitoria de azitromicina, eritromicina, tetraciclina y ciprofloxacina en cepas de *Campylobacter coli* aislada de carne de pollo en mercados de Lima Metropolitana", presentado por la bachiller Kiara Nelida Cáceres Bautista para optar el título de Médico Veterinario CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 7% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

Firma del Asesor _____

DNI: 40628304

Nombres y apellidos del asesor: César Aquiles Lázaro De La Torre

Huella digital

DEDICATORIA

A Dios por brindarme salud y ponerme a personas que guiaron y guían mi camino.

A mamá y papá por el esfuerzo que hacen todos los días por cuidar la familia. Janeth y Alan por apoyarme e inspirarme a seguir paso a paso a pesar de que parezca muy difícil y de miedo.

A mi primera mascota Pequeña y mis otras mascota Melocotón, Alcachofa, Lechuga, Michilin y Chizi por la compañía brindada todo este tiempo de trabajo y por darme motivos de seguir estudiando.

A mis amigos del trabajo por apoyarme y brindarme nuevas experiencias.

A Kiara chiquita que aspiró estudiar en la UNMSM y que literalmente soñó con ser Médico Veterinario mientras se preparaba en la academia.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, padres, hermanos y a mis mascotas Melocotón, Alcachofa, Lechuga, Michilin y Chizi por apoyarme durmiendo en cada madrugada de trabajo.

A mis compañeros y amigos de la Clínica Veterinaria Animal House, por apoyarme moral y emocionalmente y a la vez presionarme cuando estaba avanzando la redacción. Gracias a las doctoras por colaborar en mi formación profesional y personal.

A Mayrita por ser mi amiga más cercana desde que empezamos a trabajar juntas, por darme su confianza y apoyo en todos los sentidos.

A mis amigos de la universidad, principalmente a Jazmín, Juanjo y Hernan por haber compartido y crecido conmigo los 6 años de carrera presencial y virtual, valoro mucho su amistad. A Aceituna por brindarme mucha paciencia, amor y compañía.

A María Elena por existir, por ser mi amiga desde el colegio, por acompañarme y por compartir tantos sueños juntas.

A mi asesor César Aquiles Lázaro de La Torre por brindarme la oportunidad de desarrollar este tema para la tesis, por su apoyo, su gran visión con los temas de investigación y su gran paciencia en cada reunión.

Este trabajo de investigación fue financiado por el CONCYTEC- FONDECYT en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica 2019-01 (número de contrato 405-2019) y por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Proyecto interdisciplinario RR N° 009412-2021-UNMSM con código de proyecto A2108001i y Equipamiento científico para investigación RR N° 010099-2023-R/UNMSM con código de proyecto A230809881e y A230809990e.

ÍNDICE

DEDICATORIA…….…….. ii
AGRADECIMIENTOS……..……..iii
RESUMEN ……..……..vi
ABSTRACT…….…vii
LISTA DE ABREVIATURAS……...……viii
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS…….……..ix
LISTA DE ANEXOS……xii

I. INTRODUCCIÓN……..……...…..1

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ……3
2.1. *Campylobacter* ……..….....3
2.1.1. Taxonomía……..3
2.1.2. Características generales……...……..4
2.1.3. Aislamiento y microscopia…….…….5
2.2. Campilobacteriosis……6
2.2.1. Patogenia …….....8
2.2.1.1. Enfermedades asociadas ……...8
2.2.1.1.1. Síndrome de Guillain-Barré ……8
2.2.1.1.2. Síndrome Müller- Fisher ……... 10
2.2.2. Fuentes de transmisión ……11
2.2.3. Prevención ……...13
2.3. Producción de pollo ……14
2.3.1. Producción nacional de pollo……....16
2.4. Situación de *Campylobacter* spp. en avicultura ……..17
2.4.1. *Campylobacter* spp. en la crianza de pollos de carne ……..18
2.4.2. *Campylobacter* spp. en el procesamiento de carne de pollo ……19
2.5. Resistencia antimicrobiana ……24
2.5.1. Factores que determinan la resistencia antimicrobiana en animales de producción ……25
2.5.2. Factores que determinan la resistencia antimicrobiana en humanos ……26
2.5.3. Mecanismos de resistencia de antimicrobianos ……27
2.5.4. Mecanismos de acción de antimicrobianos ……..29
2.5.5. Antimicrobianos ……...31
2.5.5.1. Fluoroquinolonas……..31
2.5.5.2. Macrólidos …….....35
2.5.5.3. Tetraciclinas……..38
2.5.5.4. Multirresistencia antimicrobiana……..38
2.6. Sensibilidad antimicrobiana ……40
2.6.1. Métodos de sensibilidad antimicrobiana …….. 40
2.6.1.1. Métodos cualitativos ……41
2.6.1.1.1. Difusión en disco ……41
2.6.1.2. Métodos cuantitativos ……..41
2.6.1.2.1. Difusión en agar ……...42
2.6.1.2.2. Macrodilución en caldo ……42
2.6.1.2.3. Microdilución en caldo ……42

2.6.1.2.4. E-test ……43
2.6.1.3. Métodos moleculares ……..44

III. MATERIALES Y MÉTODOS ……46
3.1. Lugar y tiempo de ejecución ……...46
3.2. Diseño experimental u observacional ……46
3.2.1. Origen de las muestras ……46
3.2.2. Procesamiento de las muestras ……47
a. Reactivación de cepas de *Campylobacter coli* ……....47
b. Evaluación de resistencia antimicrobiana con difusión en discos ……49
c. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por E-test……51
d. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por microdilución en placa ……52
e. Evaluación de la condición de multirresistencia antimicrobiana ……..55
3.3. Análisis estadísticos ……55

IV. RESULTADOS ……56
4.1. Reactivación de cepas de *Campylobacter coli* ……..56
4.2. Evaluación de resistencia antimicrobiana con difusión en discos ……56
4.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por E-test ……59
4.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por microdilución en placa...61
4.5. Evaluación de la condición de multirresistencia antimicrobiana ……...65

V. DISCUSIÓN ……67

VI. CONCLUSIONES ……77

VII. RECOMENDACIONES ……..78

VIII. LITERATURA CITADA ……...79

IX. APÉNDICE ……93

RESUMEN

Campylobacter spp., bacteria causante de campilobacteriosis en el humano, está relacionado con el consumo de carne de ave contaminada. Para su tratamiento puede ser necesario el uso de fluoroquinolonas, macrólidos y/o tetraciclinas; sin embargo, *Campylobacter* spp. ha desarrollado resistencia antimicrobiana. El objetivo del estudio es determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de eritromicina, azitromicina, ciprofloxacina y tetraciclina en cepas de *Campylobacter coli* aisladas de carcasas de pollo en mercados de Lima-Metropolitana. Para esto, se reactivó 106 muestras criopreservadas aisladas de carcasas de pollo de estudios previos y se procedió a determinar su resistencia con la técnica de Kirby-Bauer y posteriormente su CMI mediante E-test y microdilución en caldo. Los resultados muestran >40% de cepas resistentes en los tres métodos; asimismo, >70% de las cepas presentaron resistencia a 3 o más antimicrobianos. La CMI en ambos métodos cuantitativos, para ciprofloxacina se presentó más de 88% de las muestras en concentraciones ≥4µg/ml, para tetraciclina y eritromicina el 100% desde 32 y 64 µg/ml, finalmente para azitromicina más de 69% de muestras inició desde la concentración 32µg/ml, todos considerados resistentes. En conclusión, la CMI para las cepas evaluadas de *C. coli* en este experimento fue 32 µg/ml para ciprofloxacina en el 22.7% de cepas, >1024 µg/ml para eritromicina en el 29.9% de cepas, 50 µg/ml y >800 µg/ml para azitromicina en el 16.5% de cepas y 256 µg/ml para tetraciclina en el 41.2% de cepas. Estos resultados superiores a lo reportado en estudios similares para este microorganismo. Dándose a conocer que debe realizarse un continuo monitoreo de la resistencia y evaluación periódicamente de los valores de la CMI para *Campylobacter* spp en productos avícolas en el Perú.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana, *Campylobacter coli*, pollo, CMI, antimicrobianos

ABSTRACT

Campylobacter spp., the bacteria that causes campylobacteriosis in humans, is related to the consumption of contaminated poultry meat. Treatment may require the use of fluoroquinolones, macrolides and/or tetracyclines may be necessary; however, *Campylobacter* spp. has developed antimicrobial resistance. The objective of the study is to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of erythromycin, azithromycin, ciprofloxacin and tetracycline in *Campylobacter coli* strains isolated from chicken carcasses in Lima-Metropolitan markets. For this, 106 cryopreserved samples isolated from chicken carcasses from previous studies were reactivated and their resistance was determined with the Kirby-Bauer technique and subsequently their MIC using E-test and broth microdilution. The results show >40% resistant strains in all three methods; Likewise, >70% of the strains presented resistance to 3 or more antimicrobials. The MIC in both quantitative methods, ciprofloxacin presented more than 88% of the samples at concentrations ≥4μg/ml, for tetracycline and erythromycin 100% from 32 and 64 μg/ml, finally for azithromycin more than 69% of samples started from concentration 32μg/ml, all considered resistant. In conclusion, the MIC for the majority of *C. coli* strains tested in this experiment was In conclusion, the MIC for the *C. coli* strains evaluated in this experiment was 32 μg/ml for ciprofloxacin in 22.7% of strains, >1024 μg/ml for erythromycin in 29.9% of strains, 50 μg/ml and >800 μg/ml for azithromycin in 16.5% of strains and 256 μg/ml for tetracycline in 41.2% of strains. These results are superior to those reported in similar studies for this microorganism. It is made known that continuous monitoring of resistance and periodic evaluation of the MIC values for *Campylobacter* spp. in poultry products in Peru must be carried out.

Keywords: antimicrobial resistance, *Campylobacter coli*, chicken, MIC, antimicrobials

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	Por sus siglas en ingles American Type Culture Collection (Colección de Cultivos Tipo Americano)
CIP	Ciprofloxacina
TET	Tetraciclina
AZT	Azitromicina
ERT	Eritromicina
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
BHI	Por sus siglas en ingles de Brain Heart Infusion (Infusión Cerebro-Corazón)
MCCDA	Por sus siglas en ingles Modified Charcoal Cefoperazone Deoycholate Agar (agar Desoxicolato-Cefoperazona-Carbón modificado)
CLSI	Por sus siglas en ingles de Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)
EUCAST	Por sus siglas en ingles de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos
MH	Müller Hinton
MH II	Müller Hinton modificado
MDR	Multidrogo-resistente

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Lista de cuadros

Cuadro 1.	Solventes y diluyentes de antimicrobianos en polvo según CLSI M100 (2020).	43
Cuadro 2.	Puntos de corte para evaluación de sensibilidad antimicrobiana en el método de difusión en disco, según CLSI (2015).	49
Cuadro 3.	Puntos de corte para evaluación de Concentración Mínima Inhibitoria para el método de microdilución en placa y método de E-test, según CLSI (2015).	52
Cuadro 4.	Indicación de solución y dilución de antimicrobianos usados en experimentación.	53
Cuadro 5.	Resultados de la prueba de Kirby Bauer de cepas de supermercado (n=52).	57
Cuadro 6.	Resultados de la prueba de Kirby Bauer de cepas de mercado (n=45)	57
Cuadro 7.	Resultados de la prueba de Kirby Bauer evaluadas en todas las muestras (N=97).	58
Cuadro 8.	Resultados de prueba de E-test según los criterios de CLSI (2015) y clasificados según origen de muestra.	60
Cuadro 9.	Resultados de prueba de microdilución en placa según los criterios de CLSI (2015) y clasificados según origen de muestra.	63
Cuadro 10.	Resumen de los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cepas de *Campylobacter coli* realizadas con los métodos de E-test y microdilución en caldo.	65
Cuadro 11.	Multirresistencia evaluada por las 3 pruebas de sensibilidad.	66

Lista de figuras

Figura 1.	Árbol filogenético de especies de *Campylobacter.*	4
Figura 2.	Curva de casos de síndrome de Guillain Barré durante el año 2019 según MINSA.	10
Figura 3.	Reservorios, transmisión y diversas enfermedades asociadas a *Campylobacter* spp.	13
Figura 4.	Producción mundial de carne de pollo durante el lapso de los años 2000-2017 (MIDAGRI, 2020).	15
Figura 5.	Consumo per cápita mundial en el año 2018 (Kg/persona) (FENAVI, 2020).	15
Figura 6.	Producción de carne de pollo durante el lapso del 2000-2019 en el Perú (MIDAGRI, 2020).	17
Figura 7.	Organización de aves desde el proceso de crianza hasta la llegada a consumo.	17
Figura 8.	Vías de exposición de la población humana a factores de resistencia a los antimicrobianos.	27
Figura 9.	Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Adaptado de CDC (2022).	28
Figura 10.	Sensibilidad y multirresistencia antimicrobiana en *C. coli* y *C. jejuni*, desde muestras animales durante el 2017/2018.	39
Figura 11.	Distribución de tiras antimicrobianas en el placa grande y pequeño.	44
Figura 12.	Proceso del método molecular por PCR-HRM. Adaptado de Khan *et al.,* 2019.	45
Figura 13.	Proceso de descongelamiento de crioviales, reactivación y colocación de muestras en tubo de ensayo.	48
Figura 14.	Actividades en la evaluación de resistencia antimicrobiana con difusión en discos.	50
Figura 15.	Evaluación de las partes de elipse de inhibición antimicrobiano de las tiras de epsilometría.	51
Figura 16.	Proceso de microdilución en placa con diluciones seriadas.	54

Figura 17.	Microdilución en placa de ATCC, se observa las concentraciones de dilución.	54
Figura 18.	Microdilución en placa de tetraciclina, se observa las concentraciones de dilución.	55
Figura 19.	Kirby Bauer de una muestra resistente sin presencia de halo de inhibición y Kirby Bauer con presencia de halo de inhibición para los discos de antimicrobianos.	58
Figura 20.	Fotos del método cuantitativo de E-test.	61
Figura 21.	CMI en la prueba de microdilución en placa de los antimicrobianos.	64
Figura 22.	Cepas con resistencia a 1, 2, 3 y 4 antimicrobianos con el método de difusión en disco (MDD), E-test y microdilución en placa (MDP).	66

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Obtención de muestras en base a 2 trabajos de investigación previos de Torres (2023) y Anampa (2020).	94
Anexo 2.	Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de Kirby Bauer según criterio de CLSI (2015).	95
Anexo 3.	Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de E-test según criterio de CLSI (2015).	96
Anexo 4.	Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de microdilución en caldo según criterio de CLSI (2015).	97
Anexo 5.	Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con los tres métodos de sensibilidad tomando en cuenta resistencia con cepas clasificadas como intermedias.	98

I. INTRODUCCIÓN

Campylobacter spp. es un agente infeccioso que afecta la salud pública ocasionando procesos entéricos de corta duración en humanos; esta puede complicarse en individuos inmunocomprometidos (Collado, 2020), siendo recomendado en estos casos el uso de antimicrobianos como fluoroquinolonas, macrólidos y tetraciclinas. *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* son los microorganismos más frecuentes de esta enfermedad, las cuales se han visto vinculadas a síndromes como el de Guillain Barré y Miller Fisher, entre otras. Las bacterias del género *Campylobacter* son Gram negativas (Madigan *et al.,* 2015; OIE, 2018) y cuentan con una variedad de hospederos animales de sangre caliente; siendo consideradas las aves como comensales (Kovanen *et al.,* 2016), distribuyéndose en el tracto gastrointestinal sin ocasionar signos clínicos. El uso de antimicrobianos durante la crianza avícola ya sea como promotores de crecimiento o agentes profilácticos con dosis menores a lo recomendado ha conllevado al desarrollo de resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas y comensales del ave que incluyen al género *Campylobacter* (Ardoino *et al.,* 2017). El aumento continuo de la resistencia a nivel mundial está generando dificultad en el control y vigilancia de infecciones que en décadas atrás eran fácilmente tratables (OMS, 2020).

La carne de pollo es el alimento proteico más consumida en el Perú, llegando a consumir 47.33kg/persona a nivel nacional, convirtiéndose así en la fuente de proteína de origen animal más importante para el consumidor peruano (MIDAGRI, 2020). Por la elevada demanda de carne de pollo en nuestro medio encontramos una gran cantidad de centros de beneficio tradicionales

que propician la contaminación de la carcasa durante el proceso de sacrificio comercializándose carne de pollo con notables deficiencias sanitarias (Bueno *et al.,* 2017; Florida, 2019; Actualidad avícola, 2020), sobre todo durante el proceso de evisceración donde hay mayor riesgo de contaminación de la carne con el contenido intestinal del pollo (Hayama *et al.,* 2011; Robyn *et al.,* 2015; Facciolá *et al.,* 2017; Perez-Arnedo y Gonzalez-Fandos 2019; Lai *et al*., 2021; Bai *et al.,* 2021). Este factor ha sido base para la diseminación de cepas resistentes de *Campylobacter* spp. En Sudamérica se aísla *C. coli* más que en países desarrollados, alcanzando más de 25% de casos de diarrea vinculados a esta especie (Fernández, 2011). El estudio de Wang *et al.* (2016) a partir de heces de pollos obtuvo multirresistencia mayor para *C. coli* comparado con *C. jejuni*, dando a entender que *C. coli* puede tener una mejor adaptación y sobrevivencia en presión de selección de antimicrobianos.

Importante tener en cuenta los métodos de sensibilidad antimicrobiana fenotípicas (CLSI, 2012), los cuales son difusión en disco, prueba tamiz (Matuschek *et al.*, 2014); E-test, método que usa placa con agar similar a difusión en disco, pero con la diferencia que evalúa la concentración que inhibe el crecimiento bacteriano con la formación de un halo alrededor de la gradiente de la tira con concentraciones decrecientes (Schwalbe *et al.,* 2007; Syal *et al.,* 2017); y microdilución en caldo, método que usa micro volúmenes en placas de microtitulación con diluciones seriadas que determinaran al igual que E-test la CMI con turbidez en el pocillo (Schwalbe *et al.,* 2007; CLSI, 2012; Schumacher *et al.,* 2018). Determinar la resistencia de *Campylobacter* spp. es de prioridad en salud pública por el aumento considerable de resistencia en casos humanos a nivel internacional (OMS, 2023), siendo el Perú no ajeno a la situación. Pero determinar la concentración mínima que inhiban (CMI) las cepas de *Campylobacter coli* es lo más importantes para plantear estrategias y crear programas de vigilancia epidemiológica mediante la definición de cepas resistentes y el nivel de resistencia de este patógeno en la crianza animal, beneficio, expendio y preparación de alimentos, contribuyendo en la eficacia de tratamientos humanos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Campylobacter*

2.1.1. Taxonomía

La bacteria pertenece al género *Campylobacter*, familia *Campylobacteriaceae*, orden *campylobacterales*, clase *epsilonproteobacterias,* phylum *proteobacterias* la cual incluye 32 especies descritas y 9 subespecies (Figura 1), siendo las más conocidas *C. jejuni* y *C. coli*, consideradas responsables de ocasionar gastroenteritis en humanos (Madigan *et al.,* 2015) y al menos 13 de las especies restantes de estar involucradas en enfermedades de animales y humanos (Costa e Iraola, 2019).

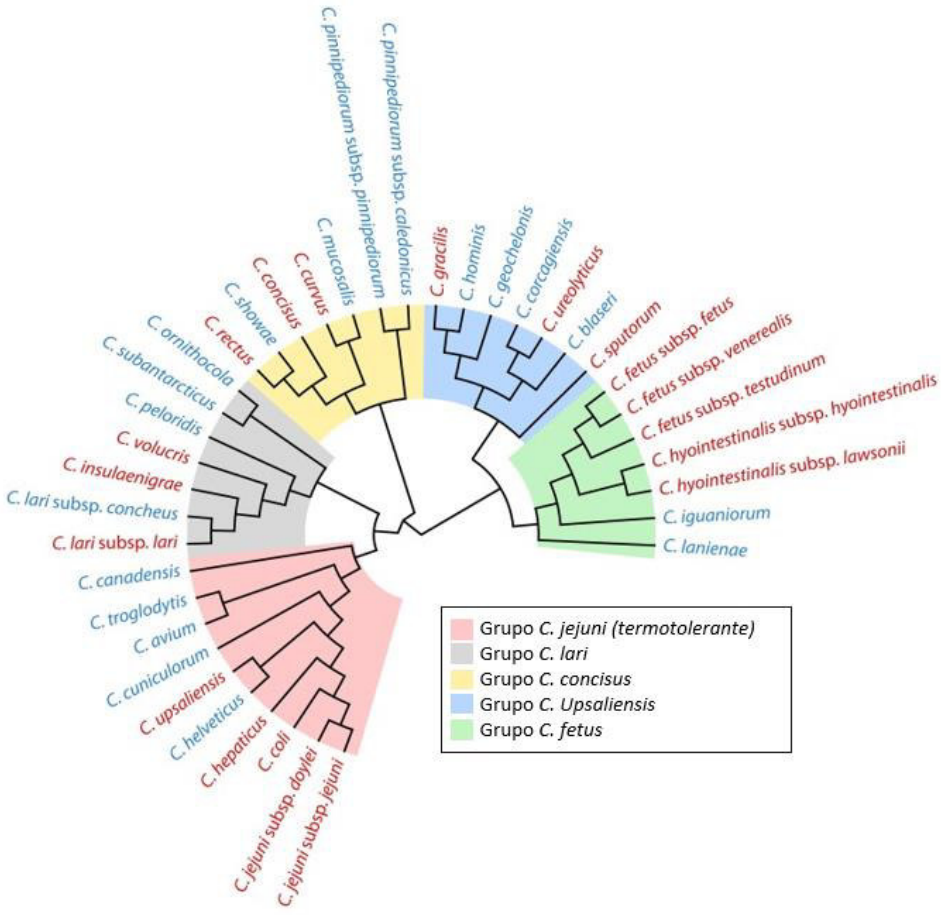


Figura 1. Árbol filogenético de Especies del género *Campylobacter*. Las especies de letras de color rojo son consideradas causantes de infecciones en humanos y animales; las letras de color azul no están reportadas como causantes de infección. Adaptado de Costa e Iraola (2019).

2.1.2. Características generales

Los que pertenecen al género *Campylobacter* son microorganismos gram negativos, no formadores de esporas, tienen forma de bacilos, delgados, curvos, en espiral, con longitud aproximada de 0.5 y 5.0 µm y un ancho entre 0.2 y 0.8 µm aproximadamente (Madigan *et al.,* 2015). La mayoría son móviles y se caracterizan por su movimiento en espiral muy parecido al sacacorchos ocasionado por un flagelo polar ubicado en un extremo del microorganismo. Las únicas excepciones del género *Campylobacter* son *C. gracilis*, puesto que no tiene motilidad y *C. showae* que cuenta con varios flagelos (Bolton, 2015).

Las bacterias de este género son microaerófilos, es decir, pueden sobrevivir y desarrollarse bien en un ambiente con presión parcial baja de oxígeno (5% O_2, 10% CO_2 y 85% N_2). También cuentan con actividad oxidasa en todas las especies excepto *C. gracilis*. No poseen la capacidad de fermentar ni oxidar carbohidratos, obtienen energía desde los aminoácidos o productos del Ciclo del Ácido Tricarboxílico, también conocido como Ciclo de Krebs (Madigan *et al.,* 2015).

Pueden desarrollarse en pH entre 6.5 - 7.5 y con temperaturas que van entre 37- 42 °C. Por este motivo, es considerado un microorganismo termotolerante, en especial a las especies *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* (García-Sánchez *et al.,* 2018). Baali (2020) indica también que en las temporadas de verano la frecuencia de aislamiento es más alta (94.2%) que en la temporada de frío (38.3%). Levin (2007), propuso que estos microorganismos son termotolerantes debido a que no tienen la capacidad de desarrollarse a temperaturas iguales o mayores de 55°C y tampoco pueden desarrollarse a temperaturas menores de 30°C, por la no existencia de genes que codifican la proteína de shock térmico que ayudan a hacer más fácil la adaptación a bajas temperaturas.

2.1.3. Aislamiento y microscopía

Campylobacter spp. por mucho tiempo ha sido considerada como microorganismo de cultivo complicado, por su intolerancia al estrés del ambiente y la presencia de otras bacterias como competencia. Según el ISO 10272-1 requieren de medios de cultivo especiales según la muestra y los niveles esperados de *Campylobacter* spp., por la diferencia cuantitativa que posean los distintos tipos de muestra. Se puede usar caldo Bolton o agar mCCD para muestras de productos cocidos o congelados; caldo Preston en muestras de carne o leche cruda y el uso de placa directa en muestras de contenido fecal de aves por la elevada carga bacteriana (Biesta-Peters *et al.,* 2019). La incubación se da en ambiente microaerófilo con una temperatura entre 37°C a 42°C por 24 a 48 horas, por lo general se usa 42°C para reducir la multiplicación de otros

microorganismos y mantener un crecimiento solo de *Campylobacter* spp., especies termofílicas. A continuación, se procede a la identificación de placas enriquecidas con sangre para aliviar el estrés oxidativo, donde se observan colonias de color rosa pálido, convexas, redondas, brillantes de borde irregular; en medios como el agar mCCD, donde las colonias se observarán de color grisáceas, planas y con un brillo metálico (Madigan *et al.,* 2015; OIE, 2018).

Al microscopio se observan bacilos espiralados con movimiento, pero cuando los cultivos tienen tiempo se tornan de forma cocoide y con menos movimiento. Posteriormente se procede a realizar la prueba de oxidasa, producción de catalasa, la hidrólisis de hipurato donde la única positiva a la prueba es *C. jejuni,* la reducción de nitratos, la producción de H_2S (OIE, 2018). También se han estudiado técnicas moleculares y genéticas para poder confirmar resultados bioquímicos. Entre esas técnicas encontramos PCR, MLST (Multilocus Sequence Typing) para poder secuenciar fragmentos genéticos: aspA, glnA, gltA, glyA, pgm, tkt, uncA (Persson y Olsen, 2005, pubMLST, 2021)

2.2. Campilobacteriosis

Enfermedad autolimitante causada por *Campylobacter* spp., con un periodo relativamente corto llegando a cursar unos 10 días aproximadamente, puede ocurrir a cualquier edad (Collado, 2020), donde se presentan signos clínicos como diarreas, dolor abdominal, aumento de temperatura corporal (40°C), dolor de cabeza, dolor muscular, además de náuseas y vómitos. Los casos graves y mortales de campilobacteriosis suelen ocurrir en niños, personas mayores de edad o en personas con alguna condición que comprometa su sistema inmune, como por ejemplo el SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida), cáncer, entre otros (OMS, 2023).

Las especies de mayor consideración en el género *Campylobacter* son *C. jejuni* y *C. coli* (Bolton, 2015), causantes de gastroenteritis bacteriana en humanos, las cuales tiene una incidencia de aislamiento en pacientes de 3 - 4 veces mayor que *E. coli*, *Shigella* spp. y *Salmonella* spp.,

agentes muy comunes en enfermedades gastroentéricas por muchos años (Costa e Iraola, 2019), además según la OMS (2020) (Organización Mundial de la Salud) es considerada dentro de las cuatro más frecuentes enfermedades causantes de diarreas infecciones a nivel mundial. En Sudamérica, hay mayor constancia de aislamientos de *C. jejuni*, pero se aísla *C. coli* más que en otros países desarrollados, alcanzando un 25% de casos de diarrea (Fernández, 2011). En los países que tienen ingresos de bajos a intermedios, los pocos estudios de investigación sugieren que la tasa de infección por *Campylobacter* spp. ha incrementado en los últimos años (Platts-Mills y Kosek, 2014).

En el Perú según la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) del 2021 (INEI, 2021) la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es el causante más importante de mortalidad en niños, mas no se hace la identificación de los agentes causales, desconociendo la prevalencia e incidencia de la enfermedad. En 2022, la evaluación hasta la SE 40, registró 627 142 episodios de EDA en el país y 18.86 episodios por cada 1000 habitantes (Vol 31-SEM 40) (RENACE, 2022).

Como se indicó, no se cuenta con información y tampoco se le había dado la importancia necesaria hasta octubre del 2022 donde se aprobó la "Directiva Sanitaria para la Vigilancia Epidemiológica de la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) por *Campylobacter* spp. en hospitales centinelas N°146-MINSA/CDC-2022", el cual tiene como finalidad la disminución EDAs por *Campylobacter*, además de incentivar la investigación, identificar oportunamente, determinar medidas de control y prevención de esta enfermedad (El Peruano, 2022).

2.2.1. Patogenia

La campilobacteriosis es considerada una enfermedad zoonótica de origen alimentario (OMS, 2020). Después de la ingestión del microorganismo patógeno, *Campylobacter* spp. se

multiplica a nivel de la mucosa del intestino delgado, procede a invadir el epitelio intestinal, ocasionando degeneración y atrofia glandular, disminución en la producción de moco, daño e inflamación en la mucosa a causa de producción y liberación de citotoxinas, provocando las diarreas mucosas-sanguinolentas. Esta bacteria es resistente a la acidez gástrica, por ese motivo se requiere de un mínimo de 10^4 células para poder dar comienzo a la infección. Pero, esta carga puede disminuir a casi menos de 500 células cuando hay problemas de producción de ácidos gástricos en el individuo, contando así con dosis bajas, pero aun efectiva para producir enfermedad grave (Madigan *et al.,* 2015; Bolton, 2015).

2.2.1.1 Enfermedades asociadas

Las complicaciones son poco frecuentes, se puede presentar bacteriemia, hepatitis, pancreatitis, abortos. Entre otras complicaciones figuran la artritis reactiva, trastornos inmunes como el conocido Síndrome de Guillain Barré (SGB) y Síndrome de Miller Fisher (SMF). La relación exacta entre *Campylobacter* y el desarrollo de estas patologías aún sigue en investigación (Figura.3).

2.2.1.1.1. Síndrome de Guillain Barré (SGB)

Una enfermedad del sistema inmune que compromete el Sistema Nervioso Periférico ocasionando una forma de parálisis flácida ascendente aguda parecida a la poliomielitis, puede ocasionar también alteración respiratoria y neurológica grave que incluso puede llevar a la muerte en algunos pocos casos (OMS, 2020). Esta complicación tiene estrecha relación con *Campylobacter* spp. que produce una reacción cruzada de anticuerpos en los gangliósidos y células nerviosas, debido a la gran semejanza de antígenos bacterianos (antígeno O del lipopolisacárido el cual tiene ácido siálico) con receptores en las células nerviosas, generalmente se presenta con la forma de neuropatía axonal motora (Godschalk *et al.,* 2004; OMS, 2020; Ramos *et al.,* 2021).

El Boletín epidemiológico del Perú 2022 describe que el SGB se desarrolló como un evento poco frecuente, identificándose 290 casos anuales de 0.9 por 100 000 personas/año, hasta el brote de SGB presentado en La Libertad en el 2019, posterior a esto el reporte de casos fue en aumento. Durante la Semana Epidemiológica (SE) 26 de ese año se detectó un aumento de casos sospechosos de SGB, 1.2 casos por cada 100 000 personas/año, llegando a finales del 2019 a 3.44 casos por cada 100 000 personas/año (Figura 2) (CDC-MINSA, 2020). En Julio del 2019, se identificaron 683 casos confirmados de SGB, de los cuales 426 pacientes contaban con datos clínicos de hospitalización. En las muestras correspondientes se pudo detectar *Campylobacter* spp. en 5.2% de las muestras fecales (19 personas). Sin embargo, no se contó con notificaciones de enfermedades diarreicas previas o durante la manifestación de casos de SGB. Casos anteriores asociados a *Campylobacter* en su mayoría se han producido en el contexto de brotes más grandes de enfermedad diarreica sintomática. Por lo expuesto, *Campylobacter* spp. es identificada como fuente potencial de la epidemia SGB (Gavilán *et al.,* 2019; CDC-MINSA, 2020; Munayco *et al.,* 2020). Por este motivo en mayo del año 2021 se aprobó NT N°175-MINSA2021-CDC "Norma Técnica de Salud para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico de Laboratorio del Síndrome de Guillain Barré en el Perú" (MINSA, 2021).

En el año 2022 la tasa incidente fue de 0.84 por cada 100 000 personas/año, siendo las personas geriatras las más vulnerables, hasta la SE 44, el 25.1% manifestó presentar infecciones gastrointestinales Vol 31-SEM 44 (RENACE, 2022).

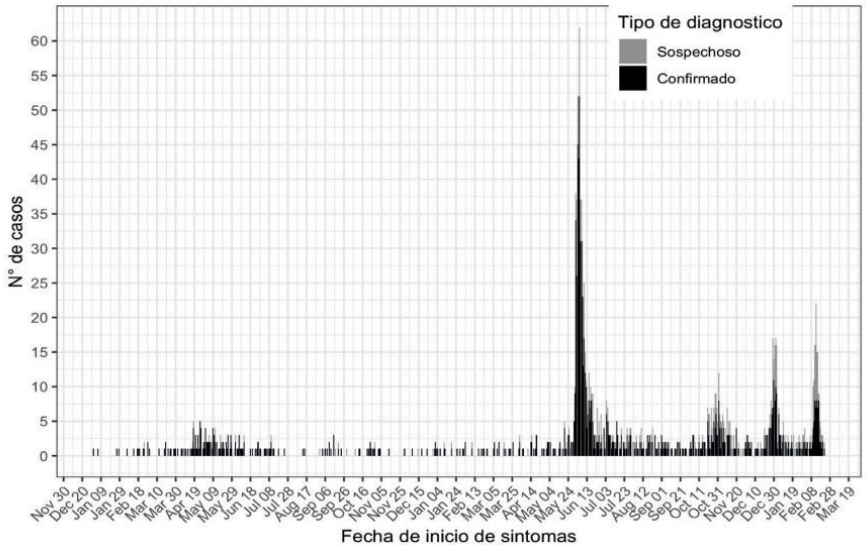


Figura 2. Curva de casos de SGB durante el año 2019, evaluados por semanas (MINSA, 2020).

2.2.1.1.2. Síndrome de Miller Fisher (SMF)

El SMF es una variación del SGB y se distingue principalmente por la tríada clínica: arreflexia, oftalmoplejía y ataxia. Se presenta en 1 al 5% de todos los casos de SGB principalmente en países occidentales y hasta en un 19% (Taiwán) y 25% (Japón) en algunos países orientales (Mori *et al.,* 2001). La enfermedad se da por una respuesta inmune dirigida contra el tejido nervioso, debido a una reacción cruzada entre el microorganismo extraño y el ganglióside GQ1b (Madrid *et al.,* 2012). *C. jejuni* y otros agentes como el virus del zika, entre otros están asociados al desencadenamiento de esta respuesta (MINSA, 2020). Por lo general, este síndrome se presenta en adultos con una edad promedio de 43.6 años, no obstante, se han notificado casos en todas las edades, siendo los reportes en niños los más escasos (Madrid *et al.,* 2012). En el Perú, los reportes en niños de menos de 15 años son pobres, (Samaniego–Lozano *et al.,* 2017) reporta uno de los pocos casos en Lima sobre un niño de 12 años con los signos expuestos de SMF (oftalmoplejía, ataxia y arreflexia).

2.2.2. Fuentes de transmisión

Campylobacter spp. cuenta como hospedadores a los animales mamíferos de sangre caliente como los bovinos, cerdos, animales silvestres, entre otros y especialmente las aves ya que su temperatura corporal es mayor al promedio (39 - 41°C) (Figura 3) (Kovanen *et al.,* 2016). Las aves mantienen a la bacteria como comensales a nivel del tracto intestinal comportándose como hospederos asintomáticos, es así como son considerados como fuente de contaminación para los humanos, para otros animales, el medio ambiente e incluso alimentos provenientes de animales como la carne y la leche. Asimismo, un estudio realizado en Iquitos, Perú analizó 200 muestras fecales de animales silvestres (100 aves y 100 mamíferos) de las cuales 22 muestras (11%) fueron portadores de *Campylobacter* spp., de estos un 25% fue aislado de aves de corral y 20.5% en primates. La presencia del agente en estas especies probablemente sea porque en muestro medio contamos con condiciones ambientales factibles de propagación de *Campylobacter* spp.: temperatura y humedad elevada, más aún por la carencia de medidas sanitarias en la zona, donde los mamíferos, roedores y marsupiales podrían haber tenido contacto con personas durante su búsqueda de alimento o también podrían haber consumido huevos, los cuales estarían infectados (Tresierra-Ayala *et al.,* 2006). Otro estudio evaluó muestras de perros (103), gatos (17) y niños (160) de hasta 5 años con síntomas clínicos de diarrea u otras enfermedades. El 6.8% de los niños y el 18.3% de muestras de las mascotas fueron *Campylobacter* spp. positivo presentando un porcentaje mayor los perros en comparación con los niños (Rodrigues *et al.,* 2015).

Asimismo, se puede dar la transmisión del patógeno por la ingesta de alimentos poco cocidos expuestos al microorganismo, agua contaminada, transmisión entre personas, contacto con animales ya expuestos (OMS, 2020; MINSA, 2020). Por ejemplo, las moscas, según el estudio realizado en Reino Unido, la prevalencia de *Campylobacter* spp. en moscas cercanas a las granjas de pollos de engorde fue 0.22%. dando a entender que una mosca tiene la capacidad de contaminar y dar *Campylobacter* positivo en otras granjas, y de transmitir *Campylobacter* a los

humanos de forma directa o indirecta a través de los pollos (Royden *et al.,* 2016). En la crianza cuando no se mantiene el sistema todo adentro - todo afuera, tal como el estudio de Kassem *et al.* (2010), el cual evalúa la camas nuevas y reusadas da a conocer que las camas nuevas presentaban 33% de positividad para *Campylobacter* spp. a comparación de las camas reusadas (60%) en la primera semana de crianza, muy probablemente por presencia de restos orgánicos y alto porcentaje de humedad; llegando a concluir que esta bacteria puede llegar a persistir durante la inactividad entre campañas y desinfección. Durante el proceso de sacrificio del ave, se dan puntos de contaminación cruzada en la fase de desplume, eviscerado y lavado final (Hayama *et al.,* 2011; Facciolà *et al.,* 2017; Lai *et al.,* 2021; Bai *et al.,* 2021). También durante el expendio y en la preparación, debido a la insalubridad de la cocina por motivos económicos o simplemente por falta de conocimiento sobre manipulación de alimentos y de contaminación cruzada entre alimentos (EFSA y ECDC, 2013).

C. jejuni es la especie más identificada en aves y bovinos, mientras que la especie *C. coli* está más asociada a la especie porcina (Bolton, 2015). Los cerdos eran considerados como único reservorio primario de *C. coli*, ahora ya consideran a otras especies como el pollo (Wang *et al.,* 2016; Toledo *et al.,* 2018). Con el pasar el tiempo se ha observado un cambio de la especie dominante de *C. jejuni* a *C. coli* en pollos de consumo (Wang *et al.,* 2016). Ambas especies muy relacionadas con la enfermedad en seres humanos y animales de compañía como lo son los perros y gatos. En la Unión Europea, la campilobacteriosis obtuvo las mayores notificaciones en el 2018, reportándose 246 571 casos, detectando esta bacteria en la carne de pollo en 37.5% (EFSA y ECDC, 2020).

Asimismo, *C. jejuni* es la especie más comúnmente aislada en países en subdesarrollados y desarrollados, siendo *C. coli* la principal responsable de ocasionar entre el 5 y el 10% de todos los casos de campilobacteriosis (Fernández, 2011; Risteen *et al.,* 2020). El Estudio Multicéntrico Entérico Global (GEMS siglas en inglés de Global Enteric Multicenter Study) estudió 189

muestras de personas africanas y asiáticas, de las cuales se obtuvo 35 aislados de *C. coli*, 3 aislados de *C. lari* y 151 aislados de *C. jejuni* (Risteen *et al.,* 2020). En América del Sur, la especie con mayores aislamientos fue *C. coli*, aproximadamente causó un cuarto de los casos de diarrea por *Campylobacter.* Se ha encontrado a partir de agua de ríos, carne y menudencias de pollo de consumo y de carne de distintos animales, heces de pollos y aguas residuales (Fernández, 2011).

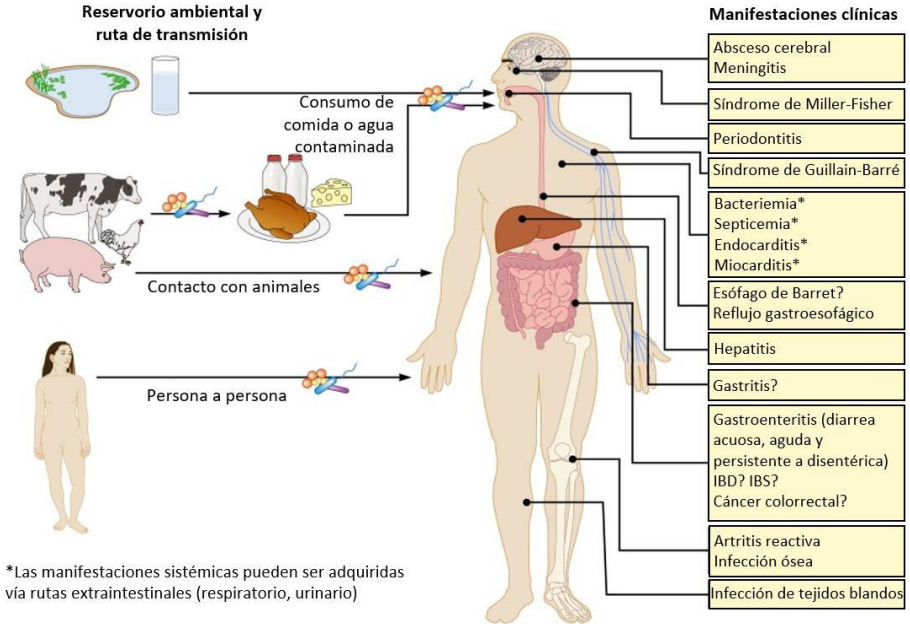


Figura 3. Reservorios, transmisión y diversas enfermedades asociadas a *Campylobacter* spp. Pueden transmitirse a través de la ingesta de alimentos poco cocidos o contaminados, aguas contaminadas, contacto con animales y transmisión entre personas. Adaptado de Kaakoush *et al.* (2015).

2.2.3. Prevención

Hay acciones que se deben realizar para evitar la contaminación y presentación de casos de campilobacteriosis según OMS (2020) y FSIS-USDA (2013); durante la crianza por ejemplo se debe dar ímpetu en la mejora de la bioseguridad y evitar de crianza de forma extensiva o de traspatio, así también mantener jaulas de piso de alambre, por fácil limpieza durante y entre campañas, mantener tiempos de inactividad entre campañas, realizar desinfección y tratamiento de fuentes de agua. Durante el beneficio, enseñar a trabajadores a manipular la carne durante el

sacrificio ya que la salubridad durante este proceso disminuye el contacto de heces con la carcasa, pero no en su totalidad.

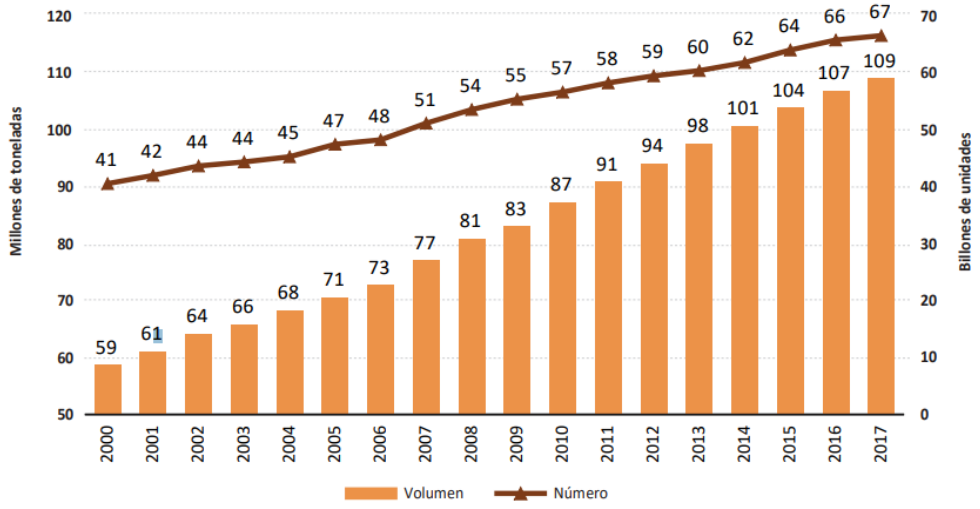
En el hogar, manteniendo viables los Sistema de Agua y Desagüe. Según lo informado por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) del Perú en el 2021 un 76.4% de viviendas rurales cuentan con servicio de agua y 35% con servicio de alcantarillado; 94.4% de viviendas urbanas con servicio de agua y 87.6% con servicio de alcantarillado. Mejorando la limpieza de utensilios de la cocina, por ejemplo, tablas de picar, cuchillos, entre otros, por la contaminación cruzada; otra de las recomendaciones es educar sobre el manejo de alimentos, la OMS (2020) muestra las "Cinco claves para la inocuidad de los alimentos" las cuales son: Mantener la limpieza, separar alimentos cocidos y no cocidos, cocinar los alimentos por completo, mantener los alimentos a temperaturas seguras, utilizar agua y materias primas seguras; y principalmente dar reporte de casos para mantener un control y registro de la enfermedad.

2.3. Producción de pollo

La producción mundial de carne de pollo entre el año 2000 hasta el año 2017 incrementó en 85.9% (MIDAGRI, 2020) (Figura 4) y en el 2021 se alcanzó 25 201 millones de pollos. He de mencionar que desde el 2018 se evidencia un crecimiento lento de número de pollos probablemente por la diseminación de nuevos virus de influenza aviar (BMC, 2023). Ese año, la carne de ave representó aproximadamente el 37% de la producción mundial de carne. Los países productores más grandes de esta proteína animal en octubre del 2022 fueron Estados Unidos (20 845 mil Toneladas), Brasil (14 400 mil Toneladas), China (14 300 mil Toneladas) y la Unión Europea (10 920 mil Toneladas). En cuanto al consumo, el año 2022 superó casi en 4 millones de toneladas al año 2021 (USDA, 2023) estos valores tan grandes son probablemente debido al incremento de recursos económicos de la población, menor costo de producción avícola, mayor demanda debido a problemas sanitarios con las otras proteínas, entre otras (FIRA, 2019; FAO, 2023). El consumo per cápita mundial de carne de pollo en la última década aumentó en un 15%

(FIRA, 2019), en el 2018 tuvo como principales países consumidores a Brasil (71.20 kg/persona), Israel (65.23 kg/persona), Estados Unidos (59.82 kg/persona), Perú se encontró en el puesto 11 con 49.45 kg/persona (Figura 5**)** (FENAVI, 2020).

Figura 4. Producción mundial de carne de pollo durante el lapso de los años 2000-2017 (MIDAGRI, 2020).



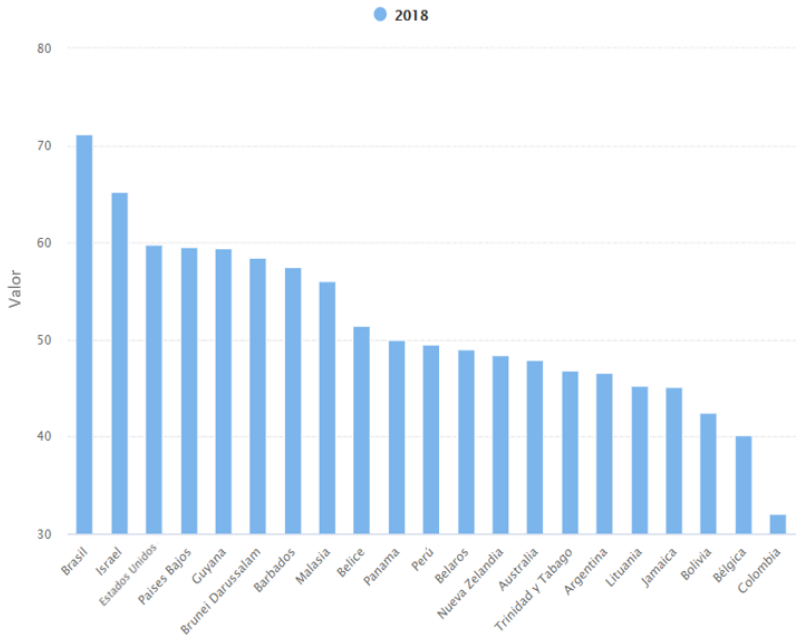


Figura 5. Consumo per cápita mundial en el año 2018 (Kg/persona) (FENAVI, 2020).

2.3.1. Producción nacional de pollo

En el país, la avicultura es una actividad económica en auge (Figura 6). Entre el 2012 y 2019, un periodo de 7 años, la avicultura creció junto con la producción de cerdos, mientras que las otras carnes (vacuna, caprina) disminuyeron (MIDAGRI, 2020). En el 2022 la carne de pollo contribuyó con un 26.3% del PBI de producción agropecuaria. La industria de carne de pollo desde enero a diciembre produjo 1 685.8 miles de toneladas, 2.8% más respecto al año 2021, donde se obtuvo 1 639.2 miles de toneladas. El consumo per cápita nacional en el 2022 fue 47.33 kg/habitante y en Lima alrededor de 77.59 kg/habitante (MIDAGRI, 2023). Según informa el Boletín Estadístico Mensual de la Producción y Comercialización de Productos Avícolas de diciembre 2023, la carne de pollo es considerada como la más importante fuente proteica en el Perú y regiones. Durante el primer trimestre del 2020, la producción de pollo y de huevo de gallina creció con respecto al 2019, todo esto sucedió a pesar de la pandemia por COVID-19, la cual afectó al sector agrícola en una baja de -0.3% y favoreció al sector agropecuario en un incremento de 0.7%. Considerando el análisis de otros meses, a partir del mes de mayo empezó a caer la producción en -4.33% debido a los problemas económicos en las empresas a causa de la pandemia y en el 2022 la producción se incrementó notablemente. Pero el consumo por habitante se vio afectado de marzo a noviembre, principalmente por el incremento de precios de insumos de alimentación avícola (maíz amarillo duro, soya, fertilizantes, entre otros), por nuevas olas de COVID-19, dándose el aumento de precios en los mercados (MIDAGRI, 2023). Aun así, la carne de pollo es considerada la proteína básica del consumidor peruano por la fácil y rápida disponibilidad de producto y precio.

Es preciso tener presente que el mercado de pollo tradicional, llamado también peladurias, en muchos casos incluye el proceso de beneficio en los establecimientos que suelen estar al aire libre, no cuentan con protocolos de limpieza y desinfección rigurosos, poniendo en riesgo la inocuidad del alimento. Estos mercados han crecido por el incremento del comercio mayorista, minorista y especialmente de restaurantes, aumento de la demanda por parte de los consumidores. El jefe de SENASA señaló que un 85% de carne de pollo es producido en estos centros (Actualidad avícola, 2020). MIDAGRI informa en los boletines publicados que la demanda

disminuye entre enero y marzo por las altas temperaturas que afectan la alimentación de las aves, semana santa con la preferencia al pescado y a partir de mayo a julio aumenta por días de celebración como el día de la madre, padre y fiestas patrias, ya en los últimos meses del año aumenta por navidad y año nuevo. Aun con el consumo copioso del país se presentan carencias en el procesamiento y calidad del producto (MIDAGRI, 2020).

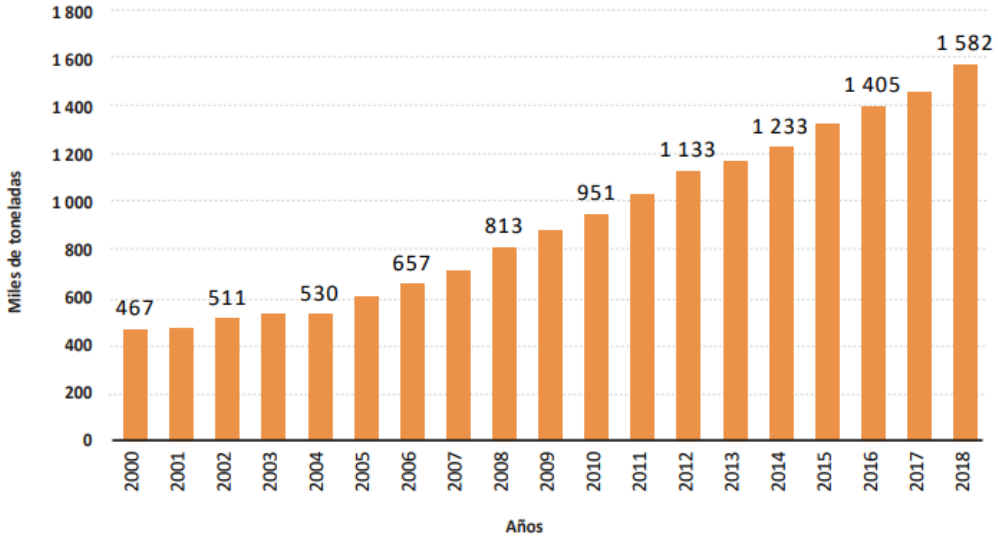


Figura 6. Producción de carne de pollo durante el lapso del 2000-2019 en el Perú (MIDAGRI, 2020).

2.4. Situación de Campylobacter en avicultura (Figura 7)

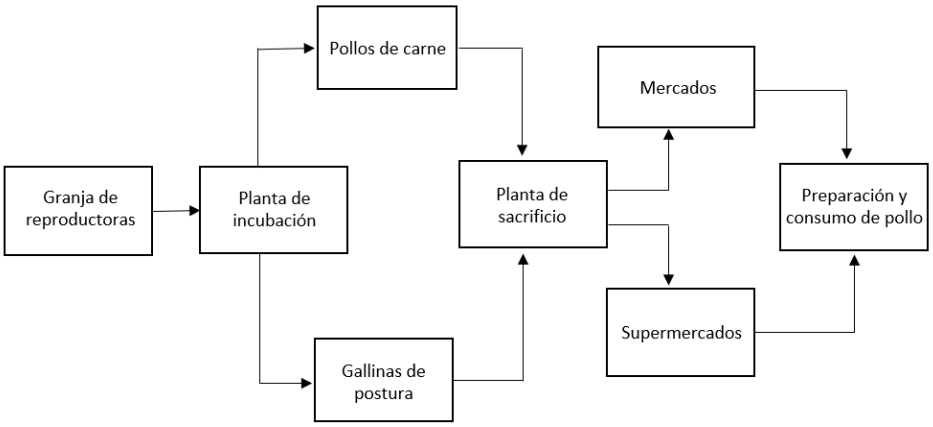


Figura 7. Organización de aves durante desde el proceso de crianza hasta la llegada a consumo.

2.4.1. Campylobacter spp. en la crianza de pollos de carne

En los centros de producción de pollos la presencia de *Campylobacter* spp. puede variar entre 2% hasta el sorprendente nivel de 100% con tiempos de colonización muy variables entre galpón y galpón. La transmisión de *C. jejuni* y *C. coli*, especies más comunes en aves se da por vía horizontal, desde el medio ambiente hacia los animales en granjas avícolas, estas pueden incrementar la carga bacteriana por encontrarse cerca de la basura, desechos de granjas, agua de bebida no tratada, presencia de moscas, roedores, animales salvajes o domésticos, indumentaria de personal, equipos usados en la crianza, alimento, la presencia de granjas cercanas infectados, tipo de ventilación y factores ambientales. Tal como lo indica el estudio de Kassem *et al.* (2010) el cual evalúa la camas nuevas y reusadas dando a conocer que las camas nuevas presentaban 33% de positividad para *Campylobacter* spp. a comparación de las camas reusadas (60%); llegando a concluir que esta bacteria puede llegar a persistir durante la inactividad entre campañas y desinfección. Y el estudio con moscas realizado en Reino Unido, encontrándose 0.22% para *Campylobacter* spp. en moscas cercanas a las granjas de producción pollos de carne, concluyendo que una mosca tiene la capacidad de contaminar y dar *Campylobacter* positivo en otras granjas (Royden *et al.,* 2016). La transmisión de esta bacteria en el galpón tiene como causal diversos factores, tales como la edad de los pollos, número de días entre lotes, por el ingreso del agente al galpón y su posterior transmisión horizontal entre los pollos teniendo en cuenta su comportamiento coprófago, ya estando a nivel intestinal, el microbioma del pollo cumplirá un rol de competencia, retrasando la multiplicación, colonización *y* velocidad de diseminación de *Campylobacter* spp.*,* carga microbiana que se irá incrementando hasta la fase de sacrificio (García-Sánchez *et al.,* 2018; Sibanda *et al.,* 2018). Según Perez-Arnedo y Gonzalez-Fandos (2019), no se encontró el agente en aves menores de 2 semanas, probablemente por la presencia de anticuerpos maternales. Es a partir del día 35 donde la carga fue aumentando hasta ser aislada.

Por otro lado, tenemos la vía de transmisión vertical, la cual aún está en investigación ya que hay controversia. Hay estudios donde se identificaron cepas de *Campylobacter* a partir de cáscaras de huevo, en los órganos reproductivos de gallinas sanas y secreción espermática de

gallos de reproducción, pero no se han confirmado casos de pollitos infectados a partir de esta vía (Pitcovski y Goyal, 2019).

2.4.2. *Campylobacter* spp. en el procesamiento de carne de pollo

En el Perú existen centros de beneficio informales que no cumplen con estándares sanitarios. Solo un porcentaje pequeño de pollos en Lima son beneficiados en centros autorizados, se calcula que aproximadamente el 85% de la producción se comercializa como ave viva beneficiándose de forma artesanal en mercados o en lugares clandestinos (Bueno *et al.,* 2017; Florida, 2019; Actualidad avícola, 2020). Esto propicia la contaminación de la carcasa por manipulación durante el beneficio y procesamiento, facilitando la contaminación cruzada llegando así a la venta en los mercados, por este motivo es importante que las aves mantengan una baja carga de patógenos al momento del sacrificio (Lázaro *et al.,* 2012; Realpe-Delgado *et al.,* 2016; Borges *et al.,* 2020). Aproximadamente entre el 60 y 80% de pollos de carne en la Unión Europea presentan colonización intestinal de *Campylobacter* spp. y que la contaminación de la carne se da principalmente en el proceso de desplumado y eviscerado (Robyn *et al.,* 2015; Pérez-Arnedo y González-Fandos, 2019).

Así, por ejemplo, un estudio realizado en España evaluó 3 granjas, incluyendo el ambiente del matadero y el equipo tecnificado usado, antes y después de la jornada, post limpieza y desinfección de las jaulas de transporte encontrándose en más del 73% de muestras evaluadas. En el estudio las muestras tomadas del agua de escaldado, desplumado, agua de lavado y mesa de trabajo fueron *Campylobacter* spp. negativas al comenzar y finalizar (después del sacrificio) la jornada laboral, se detectó *Campylobacter* spp. en el agua hirviendo, en la desplumadora y en la mesa donde se hace todo el procedimiento (Perez-Arnedo y Gonzales-Fandos, 2019).

Análogamente, en Lima, Perú, Lázaro *et al*. (2012) evaluó *Campylobacter* spp. en carcasas evisceradas, no evisceradas, agua del escaldado, agua del lavado final y muestras cecales, encontrando mayores muestras positivas en el contenido fecal (77%) y agua final de lavado (100%), siendo las heces el origen de la contaminación de la carcasa, debido al escaldado y eviscerado artesanal en centros de beneficio, propiciando la diseminación del microorganismo por las posibles rupturas intestinales durante la extracción manual de intestinos, resultados similares a Perez-Arnedo y Gonzales-Fandos (2019). Al igual que el estudio de Lucas *et al.* (2013) y Espinoza y Roque (2015) donde se identificó *Campylobacter* spp. en hisopados cloacales de 120 pollos de consumo, de los cuales un 39.1% fueron positivos, identificando un 15.8% como *C. coli* y 20% como *C. jejuni*. Finalmente, una investigación realizada en Iquitos, en el mercado de Belén y Modelo de Iquitos evaluó carne de pollo (128 muestras) y determinó positividad para *Campylobacter* spp. en un 21.1%, de estos 9.4% identificado como *C. coli* (Lozano, 2016). En estos trabajos la especie más aislada identificada fue *C. coli.*

Campylobacter tiene la capacidad de formar biopelículas que permiten su mayor sobrevivencia en objetos, en canales de pollo se identificó 77.41% de muestras positivas para *Campylobacter* spp. 58.57% de positividad durante el desplumado, 87.84% en evisceración y en lavado 79.91%. La carga más alta encontrada se dio durante el desplumado (6.91 ± 1.20 log UFC/100 cm^2), pero el punto donde se dio mayor contaminación cruzada fue durante la evisceración (Lai *et al.,* 2021). Coincidiendo con varios estudios, incluyendo a Baali (2020), los cuales encontraron 55% de muestras positivas a *Campylobacter* spp., principalmente en piel de cuello del pollo, 65% en hisopados cloacales y 70% en muestras de heces; siendo *C. jejuni* la especie más asilada en hisopados cloacales y heces a diferencia de *C. coli* la cual fue aislada mayormente en piel.

El estudio desarrollado por Guirin *et al.* (2020) en Argentina, evalúa la prevalencia de *Campylobacter* spp. a partir de carcasas de pollos por sacrificio convencional y sacrificio tipo Kosher obteniendo un 94% de muestras positivas y 32% para el beneficio

convencional. *C. coli* se aisló con mayor frecuencia de las carcasas de pollos, *C. jejuni* se aisló en superficies con contacto a los alimentos. Los valores para el sacrificio kosher se explican con el desplumando, la cual utiliza agua fría, evitando el paso de escaldado, importante para la reducción de microorganismos.

Existen estudios sobre la presencia de *Campylobacter* en muestras refrigeradas y congeladas. En Brasil, se evaluaron carcasas congeladas a -12°C y carcasas refrigeradas a 4°C de 3 mataderos de pollos, logrando aislar a *Campylobacter* spp. (Borges *et al.,* 2020); otro estudio evaluó 660 muestras de cerdo, pollo, res, de las cuales 546 fueron refrigeradas y 114 congeladas, encontrando 35 positivas para el género *Campylobacter* (5.3%) e identificándolos como *C. jejuni* (25.7%), *C. coli* (17.1%), siendo predominantes las pertenecientes a otras especies (57.1%) diferentes de *C. jejuni* y *C. coli*, lo que no da a entender que existen otras especies termofílicas contaminando los alimentos (Leão, 2018) dándonos a entender que *Campylobacter* spp. es una bacteria que resiste ambientes hostiles de temperatura y humedad, complicando así el mantenimiento y la calidad sanitaria de los productos (Borges *et al.,* 2020). Entonces la refrigeración en una herramienta útil que inhibe la proliferación de *Campylobacter* spp., reduciendo el recuento de muchas cepas de este microorganismo (Casagrande *et al.,* 2018).

Un estudio a partir muestras de 3 mataderos de pollos en Rio Grande en Brasil, evaluó hisopados de cloaca, jabas de transporte lavadas y no lavadas; de estas un 90% de muestras de cloacas fueron positivas a *Campylobacter* spp., eso quiere decir que fueron contaminadas antes de llegar al matadero, desde la granja. Una vez que un ave se infecte con *Campylobacter* y no se controle su diseminación, todos los pollos obtienen al microorganismo infeccioso. La limpieza no es del todo eficaz, las jabas desinfectadas tuvieron mayor carga bacteriana que las no lavadas, siendo un riesgo de contaminación de canales durante el sacrificio de pollos no infectados (Borges *et al.,* 2020).

Schreyer *et al.* (2022) evaluó mataderos en Argentina, identificando mayor prevalencia *de Campylobacter* en el ciego (63%), cuchillos de evisceración (26%) y manos de los trabajadores antes (26%) y después del enfriado (22%). *C. coli* (18%) fue más prevalente que *C. jejuni* (13%), *C. coli* fue la especie más presente en ciego y antes del enfriado, pero después del enfriado disminuyó notablemente. Esto depende de varios factores como el área geográfica, edad del pollo y resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, la proporción de especies cambió al final del proceso de sacrificio, donde *C. jejuni* (11.11%) estuvo más presente que *C. coli* (5.56%) en canales de pollos de engorde. Es por lo que el autor sugiere que *C. coli* es menos resistente y podría ser más sensible a condiciones de estrés en los mataderos de aves.

Conviene distinguir a uno de los factores que afecta la supervivencia de *Campylobacter* en el alimento es la temperatura relacionada con el clima de la zona en respuesta probablemente por el calentamiento global. Indirectamente el clima puede influir en la transmisión de enfermedades transmitidas por los alimentos por la alteración del alimento, estrés por calor en los animales que irá reduciendo su respuesta inmune y propiciando la colonización de patógenos llevando a una mayor contaminación del alimento en el procesamiento (Smith *et al.,* 2019). Tal es el caso del estudio realizado en Canadá donde se encontró relación entre la temperatura y la contaminación de carcasas en mercados minoristas. El aumento de temperaturas mensuales promedio de 3.6 °C y 3.5 °C en los mataderos ocasionan un 10% más la probabilidad de aislar *Campylobacter* en pollos. Además, se encontraron resultados negativos generalmente en invierno y positivos desde primavera hasta otoño (Shange *et al.,* 2019; Smith *et al.,* 2019; Baali*,* 2020). En países nórdicos se encontraron resultados similares (Khun *et al.,* 2020).

EFSA estimó que la contaminación durante el manejo, preparación e ingesta de carne de pollo representa hasta el 30% de cuadros de campilobacteriosis humana, con un 50 a 80% a causa del pollo. Por eso, la carne de pollo no cocinada o poco cocinada, sumada a la contaminación cruzada entre alimentos no cocidos y listos para comer como los vegetales y frutas durante la

preparación de los alimentos, son puntos de riesgo que propician la enfermedad (EFSA y ECDC, 2013; OIE, 2018*;* Bai *et al.,* 2021).

Lai *et al.* (2021) indican que *Campylobacter* puede sobrevivir en objetos, evaluando así elementos de cocina antes de estar en contacto con la carne de pollo encontrándose 14.52% de positividad para *Campylobacter* en las manos de quien manipula el pollo, cuchillos, tablas recipientes, pisos y lavaderos, las cuales aumentaron después del contacto con la canal del pollo a 54.39%. El conteo bacteriano fue alto en las tablas de picar antes (7.03 ± 1.10 UFC/100 cm^2) y después (7.53 ± 0.74 UFC/100 cm^2) de estar en contacto con el pollo, así se haya realizado la limpieza y desinfección (7.04 ± 0.83 UFC/100 cm^2) del material. Un estudio más específico es lo evaluado por Bai *et al*. (2021) los cuales comparan el material de las tablas de picar; plástico (5.61), madera (12.94), bambú (17.94) y acero inoxidable; frente a carne de pollo crudo contaminado por *Campylobacter* (5.1 log UFC/g). referencia importante porque generalmente es usada para la preparación de materias primas y luego para alimentos listos para comer sin un lavado previo y minucioso. Entonces, las tablas y recipientes son los que más carga bacteriana presentan comparada con el plástico por la mayor adherencia de microorganismo a los poros y captación de humedad propiciando la contaminación cruzada (Iulietto y Evers, 2020; Bai *et al*., 2021y Lai *et al*., 2021).

2.5. Resistencia antimicrobiana

En estos últimos años la emergencia de la resistencia antimicrobiana ha repercutido en gran parte del mundo, ocasionando un gran desafío para la salud pública, aumentando costos en salud, necesitando tratamientos complicados, largos y más intensos (OMS, 2020; CDC, 2022). El incremento de la resistencia antimicrobiana es dado uso indiscriminado y mal uso de antimicrobianos en la salud humana y principalmente en la salud animal. En la industria avícola se hace uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento, tratamientos profilácticos con dosis subterapéuticas y tratamientos a enfermedades infecciosas (Ardoino *et al.,* 2017).

Es por eso por lo que la OMS en el 2017 dio a conocer la primera lista de patógenos de importancia en la resistencia antimicrobiana, importante para guiar y fomentar la investigación y el desarrollo de innovación para dar nuevas soluciones. Esta lista está dividida en 3 niveles, ubicándose *Campylobacter* spp. resistente a fluoroquinolonas en el segundo nivel, categorizado como microorganismos de prioridad elevada. En Perú también se elaboró y aprobó un plan para regular la resistencia antimicrobiana en el 2019. El plan menciona patógenos de vigilancia en distintos tipos de muestra, sin embargo, no se incluyó a *Campylobacter* spp, a pesar de haber sido tomado en cuenta por la OMS (INS, 2019). También se organizó una comisión Multisectorial de resistencia antimicrobiana y generaron un "Plan piloto de vigilancia en la resistencia antimicrobiana bajo el enfoque de ONE HEALTH", en este plan se incluyeron los recursos alimenticios como la carne bovina, carne de pollo, moluscos, leches, quesos, entre otros, es por eso que SENASA, SANIPES, DIGESA Y MINSA están asociados para controlar la resistencia antimicrobiana de patógenos alimentarios (DIGESA Y MINSA, 2019).

2.5.1. Factores que determinan la resistencia antimicrobiana en animales de producción

Los antimicrobianos no son utilizados solo como tratamientos médicos en la crianza animal, sino también como tratamientos preventivos (Ardoino *et al.,* 2017) y promotores del crecimiento en dosis por debajo de lo indicado. La vía de administración es importante, puesto que algunas son más exactas que otras para la aplicación y efectividad, por ejemplo, al administrarlo a través del agua de bebida, no se tiene un control de cantidad de antimicrobiano por animal (Filippitzi *et al.,* 2016). Además, para que se genere la resistencia de antimicrobianos, ocurren acciones innecesarias que corresponden a mala praxis como son la aplicación prolongada de antimicrobianos, tratamientos incompletos, antimicrobianos de mala calidad o vencidos, dosificaciones y frecuencias de dosificaciones incorrectas, entre muchas otras. Las acciones por parte de las bacterias como la presencia de genes resistentes, mutaciones cromosómicas e

intercambios de genes resistentes que contribuyen en el desarrollo de la resistencia antimicrobiana (Zaman *et al.,* 2017).

La utilización de antimicrobianos como promotores del crecimiento en países que pertenecen al programa de "Vigilancia Europea de Consumo de Antibióticos de uso Veterinario" está prohibido (Mehdi *et al.,* 2018). La FDA de forma constante a regulado el uso de antimicrobianos en la crianza animal en los Estados Unidos (FDA, 2015), los cambios empezaron a partir del 27 de julio del 2005 por la ordenanza de retirar la aprobación de la NADA (New Animal Drug Application) y de acuerdo con la Ley de Medicamentos Alimenticios y Cosméticos ya no se hace uso de enrofloxacina y de ciprofloxacina en avicultura. Hasta ya mediados del año 2013, llegó a disminuir la resistencia de un 17% a un 11% en pollos de engorde de consumo humano (Skarp *et al.,* 2015).

Por tanto, se resalta la importancia del uso correcto de antimicrobianos desde la crianza de animales, ya que hay países que tienen planteado un control en el manejo de antimicrobianos para reducir considerablemente las cepas resistentes a antimicrobianos. Tal es el caso de Japón, donde no tienen como primera opción farmacológica a las fluoroquinolonas, y se puede encontrar niveles de resistencia intermedia del 16% al 25%. Por otro lado, los países donde tienen las fluoroquinolonas en la crianza animal, como es el caso de China, poseen exagerados niveles de resistencia, cercanos al 100% (Sibanda *et al.,* 2018).

2.5.2. Factores que determinan la resistencia antimicrobiana en humanos

La toma de antimicrobianos sin prescripción médica hecha por un profesional de la salud, exigir los fármacos cuando no han sido necesarios y no seguir indicaciones de profesionales de la

salud con respecto al uso de los antimicrobianos contribuyen al desarrollo de resistencia (Figura 8) (OMS, 2020).

La principal estrategia es prever las infecciones es haciendo un correcto lavado de manos, preparando los alimentos en condiciones inocuas, considerando las cinco claves de preparación de los alimentos según la OMS (limpieza; separar alimentos crudos de los cocinados; cocción completa; alimentos a temperaturas seguras; y usar agua y materias primas limpias) y manteniendo las vacunaciones al día (OMS, 2020).

Se debe entender que los factores veterinarios y humanos están directamente involucrados en la resistencia antimicrobiana. La administración de antimicrobianos es un gran reto en países subdesarrollados los cuales tienen la producción agropecuaria con pocas regulaciones, sobre todo para la comercialización y periodo de retiro de antimicrobianos en granjas. También en estos países se suelen tener números más altos de incidencia de enfermedades diarreicas en humanos que llegan a afectar el desarrollo físico como intelectual de los afectados (McCormick y Lang, 2016). Países como Brasil, Rusia, India, China y Sudáfrica requieren antimicrobianos para continuar con sus actividades agropecuarias (Van Boeckel *et al.,* 2014), pero también en estos países existen localidades aquejadas por una grave problema respecto a la deficiencia de limpieza, acceso a agua potable y uso absolutamente incontrolado de antimicrobianos contribuyendo así con el problema de propagación de enfermedades y aumento de la resistencia (Van Boeckel *et al.,* 2014; McCormick y Lang, 2016). Lo que se espera es reducir los casos de campilobacteriosis por fracasos de tratamientos en los países de bajos ingresos y prevenir el aumento de *Campylobacter* resistente a los antibióticos en poblaciones de riesgo evitando así complicaciones graves.

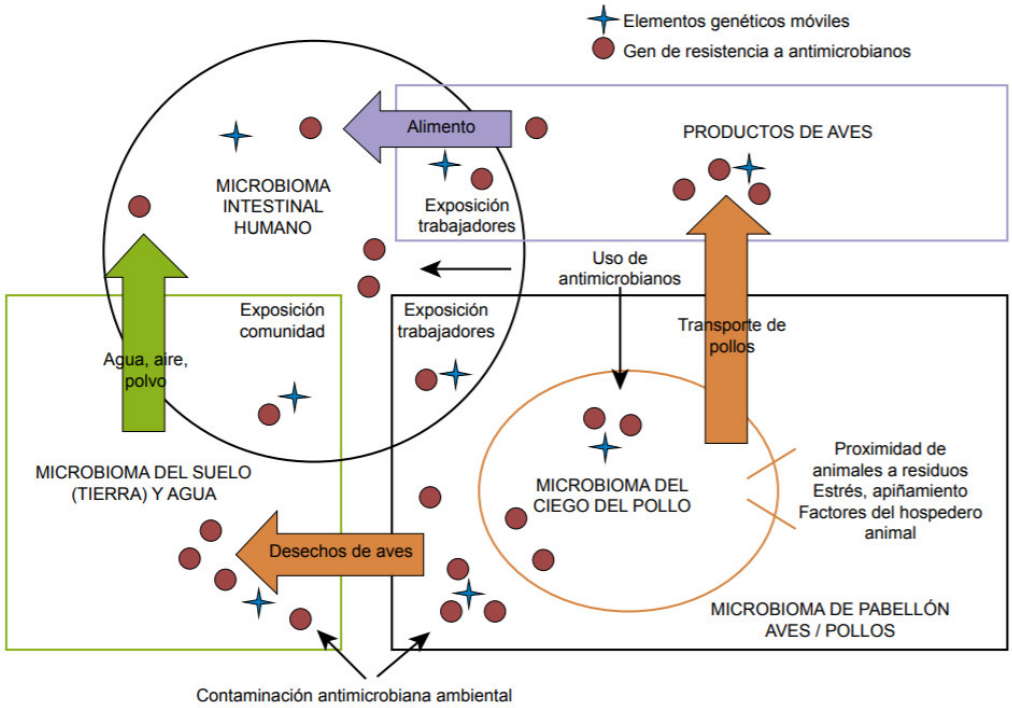


Figura 8. Vías de exposición de los seres humanos a factores de resistencia a los antimicrobianos desde la producción animal. Los desechos animales (heces, agua, restos biológicos) contienen altas concentraciones bacterianas y muy probablemente genes de resistencia, los cuales viajarán por el ambiente a través de vectores y fómites llegando al humano (You y Silbergeld, 2014).

2.5.3. Mecanismos de resistencia antimicrobiana

Existen cinco mecanismos comunes asociados con la resistencia a los antimicrobianos, estos son la alteración del sitio diana del antibiótico, inactivación del fármaco, reducción de la permeabilidad de la membrana, las bombas de eflujo antimicrobiano y síntesis de enzimas (Figura 9) (Madigan *et al.,* 2015; Reygaert, 2018; Treviño y Molina, 2022) y *Campylobacter* spp. no es la excepción. Debemos tener en cuenta que la misma célula bacteriana frente a uno o más antimicrobianos puede desarrollar uno o más mecanismos de resistencia (Gastelo, 2018).

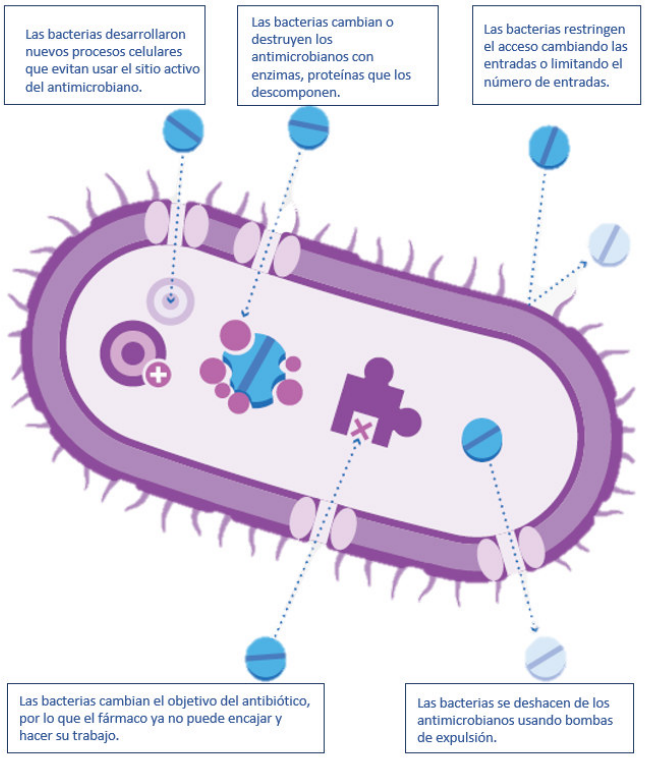


Figura 9. Representación de algunos mecanismos de resistencia antimicrobiana. Adaptado de CDC (2022).

La alteración del sitio diana, la bacteria tiene varias zonas de ataque y la alteración de un aminoácido hace que el sitio activo o diana también cambie, disminuyendo la afinidad de unión antimicrobiano-bacteria. Se puede dar por la modificación de lipopolisacáridos, modificación ribosomal, modificaciones de la membrana celular o modificación de ARN girasa y enzimas relacionadas a síntesis de folato. El otro mecanismo es la inactivación de antimicrobianos, la cual se puede dar por degradación de antimicrobiano y transferencia de un grupo químico a la droga, mayormente suele dar cesión de grupos acetilo, fosforilo y adenilo, de las cuales la acetilación es la más usada (Reygaert, 2018; Treviño y Molina, 2022).

El siguiente son las bombas de eflujo, las cuales sirven para eliminar sustancias tóxicas de la bacteria y llevar plásmidos. Las bombas de eflujo en bacterias gram positivas, pueden tener resistencia intrínseca porque están codificadas en el cromosoma (Reygaert, 2018; Treviño y Molina, 2022). No hay que olvidar, las bacterias Gram positivas no tienen membrana externa y

no hay limitación de entrada de antimicrobianos, así que las porinas son las encargadas de servir de transporte al interior de la celular. La modificación de las porinas se presenta por disminución del número o mutaciones en el canal, disminuyendo así la absorción del antimicrobiano. Finalmente, la síntesis de enzimas, el microorganismos sintetiza enzimas para inactivar al antimicrobiano, las enzimas más importantes son las betalactamasas y carbapenemasas (Gastelo, 2018; Reygaert, 2018; Treviño y Molina, 2022).

2.5.4. Mecanismos de acción de antimicrobianos

Los antimicrobianos tiene distintos puntos para atacar ubicados a lo largo de la célula, las cuales son: La pared celular la cual protege a la bacteria, la ausencia de esta estructura predispone su destrucción por la alta gradiente osmolar entre el medio interno y externo. Tener en cuenta que los agentes bacterianos se dividen en dos: gram positivos y gram negativos, los cuales tienen como diferencia que las primeras mencionadas cuentan con una pared celular compuesta por peptidoglicanos y ácido teiocoico; y las gram negativas menos peptidoglicanos, más una membrana externa con lipopolisacáridos y porinas. Por tanto, la acción antimicrobiana enfocada en la pared bacteriana será mayor en Gram positivas (Neu y Gootz, 1996; FAO, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2008). La síntesis de la pared celular tiene tres etapas: citoplásmica, donde sintetizan a los precursores del peptidoglucano; movilización a través de la membrana citoplásmica, un transportador lipídico tomará a su cargo el precursor formado en el citoplasma y ayudará a cruzar la membrana citoplásmica; y la organización última de la estructura del peptidoglucano, la cual se presenta en la porción periférica de la pared, aquí los precursores de peptidoglucano se adhieren con la apoyo de enzimas de superficie llamadas también proteínas ligadoras de penicilina (PLP). Los antimicrobianos inhiben la síntesis de peptidoglicanos durante el crecimiento al no formar bien la pared celular causan la lisis bacteriana, los agentes antimicrobianos pertenecientes a este grupo son: betalactámicos, glucopéptidos, bacitracina, estreptograminas (Neu y Gootz, 1996; FAO, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2008).

La función de la membrana bacteriana es ser parte del proceso de difusión y transporte activo para mantener en homeostasis en el medio interno. La acción de los antimicrobianos que afectan la membrana es funcionar como un conjunto de péptidos que tiene función detergente desorganizando la capa fosfolipídica de la membrana celular en gram negativas, cambian la permeabilidad, se da salida de iones y entrada de otros, desestabilizando la célula y causan la muerte celular. Los agentes antimicrobianos pertenecientes a este grupo son: Polimixinas (Neu y Gootz, 1996; FAO, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2008).

Saber también que los ribosomas están compuestos por dos subunidades, 30S y 50S. Los agentes antimicrobianos actúan a nivel de esta estructura, se da en tres fases: inhibición de fase de activación, donde los aminoácidos son llevados a la cadena de péptidos en el ribosoma a través de ARNt que se unirá a ARNm; inhibidores de iniciación de síntesis proteica; inhibidores de fijación del aminoacil-ARNt al ribosoma. Los aminoglucósidos y tetraciclinas: actúan a nivel de 30s, generando falla en la lectura de información dada por el ARNm, así la proteína formada tendrá errores y no servirá; cloranfenicol, tianfenicol actúan a nivel de 50S inhibiendo la formación de enlaces peptídicos evitando que se sinteticen péptidos; lincosamidas y macrólidos, también se unen a 50S e inhiben la traslocación, evitando la síntesis de proteínas (Neu y Gootz, 1996; FAO, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2008).

Los genes de las bacterias tienen los datos para realizar las síntesis proteicas que serán llevadas por ARNm formándose a partir del ADN. Los antibióticos que afectan el ADN se unen a enzimas que inhiben las transcripción y replicación del ADN bacteriano, no son específicos en su acción y expresan cierta toxicidad para las células eucarióticas. Los agentes antimicrobianos pertenecientes a este grupo son: Sulfamidas y trimetropinas, inhiben la formación de purinas; Fluoroquinolonas, las cuales actúan en las cadenas de ADN evitando el superenrollamiento por la inhibición de la topoisomerasa, la girasa de ADN; nitroimidazoles, rompen cadenas de ADN e impiden la reparación; y los nitrofuranos, por su parte impiden la lectura codónica ADN-ARN mensajero. Finalmente, mencionar la inhibición de vías metabólicas, las bacterias precisan de la

síntesis de folatos para formar purinas y por ende ácidos nucleicos, ya que la bacteria no puede absorber ácido fólico del medio. Los agentes que inhiben la formación del ácido fólico son las sulfonamidas y trimetoprima (Neu y Gootz, 1996; FAO, 2004; Calvo y Martínez-Martínez, 2008).

2.5.5. Antimicrobianos

Los antimicrobianos inhiben el desarrollo y la multiplicación de agentes microbianos al unirse a una diana específica microbiana para llegar a inhibir su actividad. Los efectos en el microorganismo pueden ser: bacteriostáticos, evita el desarrollo y multiplicación; bactericidas, provoca la muerte de forma irreversible de la bacteria. Los efectos dependen del mecanismo de acción del antimicrobiano y de otros factores como concentración en el lugar de infección, variedad de bacteria y tiempo de acción (Madigan *et al.,* 2015).

2.5.5.1. Fluoroquinolonas

Las fluoroquinolonas son antibióticos sintéticos, bactericidas y con un amplio espectro de acción, estas actúan con la inhibición de la ADN girasa (topoisomerasa II) y topoisomerasa IV de bacterias. Estos elementos son empleados durante la replicación, reparación y recombinación del genoma bacteriano. Cuenta con cuatro generaciones, siendo primero la generación compuesta por el ácido nalidíxico, la segunda compuesta por ciprofloxacina, antibiótico que actúa principalmente sobre bacterias gram negativas, pocas bacterias gram positivas, nula acción sobre bacterias anaerobias. La tercera generación con levofloxacina y la cuarta generación con moxifloxacina (Botana *et al.,* 2002). Por años este antimicrobiano ha sido la primera opción para tratar la campilobacteriosis en humanos, pero el aumento de la resistencia con el pasar del tiempo han reducido su uso.

Esta familia de antimicrobiano por décadas ha sido considerada la primera opción de tratamiento, pero su acción ha disminuido por la resistencia antimicrobiana. En la Unión Europea,

16 de 19 países notificaron niveles muy altos de resistencia a la ciprofloxacina, catalogada importantes en la clínica humana (EFSA y ECDC, 2020). La resistencia a este antimicrobiano y a varios otros antimicrobianos es más común para *C. coli en* comparación con *C. jejuni* (FDA, 2014; EFSA y ECDC, 2014). Numerosos estudios han reportado al género *Campylobacter* resistente a fluoroquinolonas en el continente asiático, prueba de ellos está el estudio realizado en Japón y Tailandia que desde muestras de fecas de niños con gastroenteritis presentaron resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en las dos especies ya mencionadas (Pham *et al.,* 2016).

Uno de aquellos estudios que confirma la resistencia antimicrobiana, fue realizado en el norte de Macedonia por Trajkovska-Dokic *et al.* (2019) donde se obtuvo 97 muestras positivas para *Campylobacter* spp. a partir de 3 820 muestras de fecas de pacientes con enteritis entre 1 a 77 años de edad, en el periodo del 2016 al 2017, valores superiores a los cuatro años anteriores al periodo de estudio. Se identificó *Campylobacter* spp. en un 46.4% de pacientes menores de 15 años con resistencia para ceftriaxona (52.6%), ciprofloxacina (35.1%), tetraciclina (32%), amoxicilina-ácido clavulánico (18.6%), gentamicina (8.2%) y 100% de sensibilidad para eritromicina evaluado por la técnica de difusión en disco. También se usó la epsilometría obteniendo un 35.05% de resistencia para ciprofloxacina con un CMI entre 0.5 y más de 32 µg/mL; 100% de sensibilidad para eritromicina con un CMI de 0.125 y 1 µg/mL, según EUCAST.

Los datos del Sistema Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (NARMS) de los Estados Unidos en el 2015, mostró que el 25.3% del total de aislados de *C. jejuni* y el 39.8% del total de aislados de *C. coli* presentaron resistencia para ciprofloxacina (FDA, 2014).

En Perú, se realizó un estudio en un Hospital de Lima en el cual evaluaron muestras fecales provenientes de neonatos y niños de hasta 2 años, entre el mes de noviembre del 2012 a febrero del 2013 y del último mes del 2014 a julio de 2015. Se usó la técnica de difusión en disco para eritromicina y ciprofloxacino, donde se obtuvo 150 muestras positivas para *Campylobacter*

spp., encontrando una mayor frecuencia para *C. coli* (51%) y para *C. jejuni* (30%), de estas muestras 140 cepas presentaron resistencia antimicrobiana. La resistencia relacionada con ciprofloxacino fue de 87 % y para eritromicina fue de 7.3 %. Con estos resultados se infiere que las complicaciones en niños son muy preocupantes, no solo por ser una población de riesgo, sino también por ser una población donde es raro administrar fluoroquinolonas y tetraciclinas como tratamiento (Moya-Salazar *et al.,* 2018). Otro estudio en el Hospital Pediátrico en Lima señala una resistencia a ciprofloxacina que se mantuvo de 96.8% a 96.4% en un periodo comprendido del 2007-2012 y 2013-2018 (Mezarina *et al.,* 2019).

Para poder integrar los resultados a partir de heces humanas, las evaluaciones a partir de fecas a partir de animales serán necesarios para comprender el posible origen de *Campylobacter* spp. resistente. Por ejemplo, el estudio de Wang *et al.* (2016), evaluó muestras de contenido intestinal y heces de pollos de engorde y cerdos en granjas de China durante el 2008 y 2014. De los cuales se identificaron 977 aislados de *C. jejuni* y 1 021 de *C. coli* en muestras de pollo; 12 aislados de *C. jejuni* y 970 *C. coli* aislados de muestras de cerdos, notando que la especie dominante es *C. coli*. Casi el 100% de las muestras de *C. jejuni* y *C. coli* fueron consideradas no sensibles a las fluoroquinolonas. La alta prevalencia de resistencia a las fluoroquinolonas y a macrólidos sugiere que estas dos familias de antimicrobianos importantes pueden ya no tener efecto en los tratamientos de la campilobacteriosis humana en China. En Nigeria también se encontró un 100% de no sensibilidad para ácido nalidíxico, cloranfenicol, cloxacilina y estreptomicina a partir de 150 muestras de heces de aves de granja, de las cuales 8 (5.3%) fueron positivas para *C. coli* (Ogbor *et al.,* 2019).

El estudio de Kuana *et al.* (2008) en Brasil evaluó *Campylobacter* spp. y un 62.5% mostró resistencia como mínimo a un antimicrobiano, con resistencia alta a enrofloxacina (71%) y norfloxacino (14%). Otro estudio similar fue realizado en Ecuador a partir de 259 muestras fecales de perros, cerdos, vacas y gallinas, donde *C. jejuni* fue aislado con mayor frecuencia (78.6%) frente a *C. coli* (21.4%) de todos los animales estudiados, con la excepción de los cerdos debido

a que la única especie aislada fue *C. coli* (Toledo, 2018). En Quito, Ecuador donde se encuentra el 36% de la producción total de pollos del país. Se evaluaron 379 muestras de heces de pollos de los cuales 243 fueron *Campylobacter* positivo. La tasa de resistencia evaluada con Sensititre, obtuvo *C. coli* resistente para ciprofloxacino (100%) y ácido nalidíxico (99.4%). Del mismo modo, *C. jejuni* presentó tasas de resistencia del 97.9% y del 100% para ciprofloxacino y ácido nalidíxico respectivamente (Vinueza-Burgos *et al.,* 2017).

Como se mencionó anteriormente, la contaminación de las canales con *Campylobacter* spp. es debido al contacto que tiene con el contenido fecal y fómites durante el proceso de beneficio, por lo que los estudios a partir del alimento son básicos para la vigilancia del microorganismo resistente. Así, por ejemplo, en Estados Unidos durante el lapso del 2002 al 2007, se analizaron pechugas de pollo cuyas poblaciones de la bacteria aumentaron su resistencia a ciprofloxacina de 15 a 17% (*C. jejuni*) y de 10 a 26% (*C. coli*) (Zhao *et al.,* 2010). En muestras de aves de corral en el 2012, se evaluó una resistencia de 44% para ciprofloxacina (EFSA y ECDC, 2014). Otro estudio a partir de carne de pollo y de pavos de consumo, determinó que *C. coli* tenía niveles muy altos de resistencia que *C. jejuni*. Los valores más elevados de resistencia antimicrobiana fueron para ciprofloxacina, ácido nalidíxico y tetraciclina. En general, la gran mayoría de antimicrobianos enfrentados mostraron niveles de resistencia elevados (EFSA y ECDC, 2020).

En Benin, África occidental, el 32.8% de 256 ejemplares de carne de pollo fueron positivos a *Campylobacter* spp. Un 72.7% de estas cepas fueron resistentes a ciprofloxacina (Kouglenou *et al.,* 2020). En Chile, la Región-Metropolitana entre los 2006 y 2010, se aislaron 55 muestras de carne de pollo *Campylobacter* spp. positivo en la evaluación de CMI, 58.2% presentaron resistencia a ciprofloxacina. También evaluaron muestras de heces humanas obteniendo un 60% de no sensibilidad para ciprofloxacina (Gonzales-Hein *et al.,* 2013). En el país Brasil, se analizó 60 carcasas de pollo desde mataderos. Se evaluó CMI de ciprofloxacina, norfloxacina y ácido nalidíxico con la técnica de microdilución en caldo de 30 muestras positivas

para *Campylobacter* spp, las cuales fueron *Campylobacter jejuni* resistentes a fluoroquinolonas (100%) (Sierra-Arguello *et al.,* 2018). Así mismo, otra investigación en Curitiba, Brasil, estudió 60 muestras de carcasa de pollo, 24 muestras positivas a *Campylobacter* spp. evidenciaron resistencia para ciprofloxacina 91.7% de resistencia con el método de E-test (Ferro *et al.,* 2015). Todos los estudios con más del 50% de aislados con resistencia, son desplazados de la primera línea de terapia para campilobacteriosis en muchos países, siendo de preocupación para la población.

2.5.5.2. Macrólidos

Son antibióticos de espectro amplio con efecto sobre las bacterias Gram negativas. Inhiben la síntesis de proteínas a nivel del ribosoma subunidad 50S, interfiriendo en la translocación. Podemos encontrar antibióticos como eritromicina, azitromicina, diritromicina, entre otros. Son considerados bacteriostáticos y también bactericidas, de acuerdo con el microorganismo, la concentración expuesta y el tiempo (Botana *et al.,* 2002; Morejon y Salup, 2015).

En Estados Unidos se calcula que ocurren más de 2 500 000 de casos de enteritis a causa de *C. jejuni* al año, superando los casos de salmonelosis y shigelosis. En países europeos la resistencia a partir de muestras fecales humanas a eritromicina es de 3.1% (*C. jejuni*) y 15.1% (*C. coli)*. En muestras de aves de traspatio en el 2012, obtuvo una resistencia de menos de 1% para eritromicina (EFSA y ECDC, 2014). En el 2018 la resistencia de *C. coli* a eritromicina fue mayor (14.3%) que *C. jejuni* (menos del 2%) **(**EFSA y ECDC, 2020)**.**

En Japón, la eritromicina sigue considerándose como un antimicrobiano de primera opción en casos de campilobacteriosis graves, pero en Tailandia el nivel de resistencia de macrólidos *de C. jejuni* aumentó. Por esa razón es necesaria la monitorización continua de la resistencia (Pham *et al.,* 2016). En China, durante el 2008 y 2014 se evaluaron muestras de heces positivos para *C. jejuni* y más para *C. coli*, determinando alta resistencia a las fluoroquinolonas y

macrólidos (Wang *et al.,* 2016). En Quito, Ecuador, 243 muestras de heces de pollo fueron *Campylobacter* positivo. Se identificó un 25.9% de resistencia a la eritromicina en *C. coli* y 4.2% para *C. jejuni* (Vinueza-Burgos *et al.,* 2017).

Cabe mencionar que hay una alta presentación de infecciones resistentes causadas por *Campylobacter* resistentes a la familia de fluoroquinolonas y de macrólidos en menores lactantes 24 meses de edad. Es por eso que Schiaffino *et al.* (2019) investigaron y trabajaron con 303 niños, ellos fueron evaluados entre 2009 a 2012 y seguidos hasta los 5 años. De ellos, 242 niños (79.9%) fueron positivos para *Campylobacter* spp. Un 4.9% de los muestras de *C. jejuni* y en un 24.8% de muestras que no eran *C. jejuni* fueron resistentes a azitromicina, todos los aislados resistentes a la azitromicina eran resistentes a la ciprofloxacina. En el primer año de vida, 57 (18.8%) de los niños evaluados ya habían experimentado diarrea causada por *Campylobacter* spp. resistente a la ciprofloxacina. Esto aumentó a 107 (35.3%) a los 2 años y a 122 (39.9%) a los 3 años.

Del mismo modo, en el Perú se trabajó por periodos, un estudio realizado durante el 2007-2012 y 2013-2018 en Lima, donde se evaluó la resistencia antimicrobiana de *Campylobacte*r spp. en niños de menos de 5 años con EDA en el Hospital Pediátrico. Se evaluaron ciprofloxacina y eritromicina mediante la técnica de difusión en disco. Se identificaron 2281 muestras positivas para *Campylobacter* spp., 1061 entre 2007-2012 y 1220 entre 2013-2018; la resistencia incrementó en ambos periodos para Eritromicina (1.04% a 15.90 %) y para ciprofloxacina se mantuvo de 96.8% a 96.4% (Mezarina *et al.,* 2019).

Un estudio más grande que abarcó 3 departamentos realizado por Pollett *et al.* (2012) evaluó muestras de heces humanas provenientes de 9 hospitales del Perú ubicados en Lima, Cuzco e Iquitos, con la técnica difusión en disco, evaluándose la resistencia antimicrobiana para ciprofloxacina, eritromicina y azitromicina, durante el periodo del 2001- 2005 y del 2006 - 2010. Se obtuvo como resultados un 82.9% de *C. jejuni* y un 11.9% de *C. coli*. La resistencia a ciprofloxacina en Lima, Cuzco e Iquitos aumentó para *C. jejuni*; en Lima la resistencia a

ciprofloxacina aumentó de 42.1% en el 2001 a 91.1% en el 2010. Iquitos aumentó la resistencia para eritromicina (3.2% a 14.9%) y azitromicina (2.2% a 14.9%). *C. coli* presentó incremento de resistencia para ciprofloxacina en las tres regiones, en Lima la resistencia a azitromicina varió de 4.9% a 5.8% y para eritromicina de 0% a 11%.

En Chile, entre los 2006 y 2010, a partir de carne de pollo, se presentó resistencia a eritromicina (1.8%). Se evaluó también muestras de heces humanas obteniendo 100% sensibles a eritromicina (Gonzales-Hein *et al.,* 2013). En Túnez, de 590 muestras, 132 (22.4%) fueron positivas. *C. jejuni* (68.9%) fue la especie más común encontrada, seguida de *C. coli* (31.1%). Ambas presentaron niveles altos de resistencia para eritromicina (100%) y pueden explicarse por el uso común de los mismos antimicrobianos como primeras opciones de medicamentos en crianza pollos de engorde para combatir infecciones bacterianas. En realidad, los estudios han demostrado una clara asociación positiva entre el uso de fluoroquinolonas en la producción avícola y un aumento en la resistencia de los aislados de *Campylobacter* de origen humano y aviar. En Italia la resistencia a eritromicina fue de 46.7% (*C. coli)* y el 19.4% (*C. jejuni)* en muestras de muslo. El aumento progresivo de la resistencia a la eritromicina, así como al resto de macrólidos, se presenta debido a su uso en tratamientos de varias enfermedades en aves y, aunque la prevalencia de resistencia en humanos todavía es baja, estos valores podrían aumentar (Casagrande *et al.,* 2018).

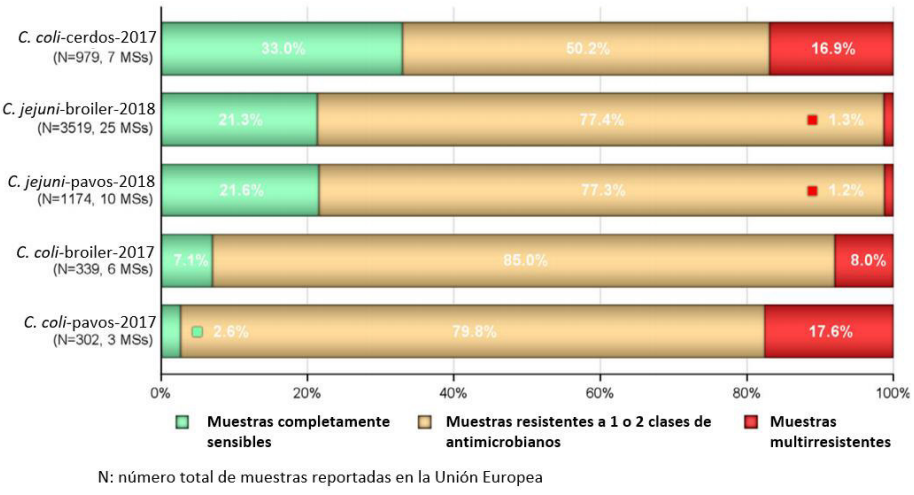
2.5.5.3. Tetraciclinas

Son antibióticos de amplio espectro con efecto sobre bacterias gram positivas, gram negativas, bacterias aerobias y anaerobias. Encontramos a tetraciclina, doxiciclina, minociclina, entre otros bacteriostáticos que buscan inhibir la síntesis de proteínas a nivel de los ribosomas 30S (Botana *et al.,* 2002).

En aislados de *Campylobacter* spp. de carne de pollo de consumo se determinaron para *C. coli* niveles de resistencia para tetraciclina y las fluoroquinolonas (EFSA y ECDC, 2020). Estudios en Curitiba, Brasil, en muestras de carcasas de pollo encontrando un 75% de resistencia a tetraciclina con el método de E-test (Ferro *et al.,* 2015). Otro estudio en Brasil evaluó la presencia de *Campylobacter* y la resistencia en fecas de perros, gatos y niños con diarrea de hasta 5 años, obteniendo más del 50% de los aislados de *C. coli* y *C. jejuni* con resistencia a tetraciclina (Rodrigues *et al.,* 2015). Otro país sudamericano como Ecuador evaluó 379 muestras de heces de pollos de los cuales 243 fueron *Campylobacter* positivo con una tasa de resistencia a la tetraciclina de 83.3% para *C. jejuni* y 67.6% para *C. coli* (Vinueza-Burgos *et al.,* 2017).

2.5.5.4. Multirresistencia antimicrobiana

Según informes de la EFSA y ECDC (2020) y Jiménez *et al.* (2019), la multirresistencia está definida como resistencia a 3 o más antimicrobianos. Las cepas con multirresistencia se observaron en 16.8% para *C. coli* a partir de cerdos y 8.0% en aislados de *C. coli* en pollos. En cuanto a *C. jejuni* se presentó un porcentaje de 1.2% en pollos y pavos de engorde. Los porcentajes también fueron bajos para las muestras de *C. jejuni* de pollos (21.3%) y pavos (21.6%) y por debajo del 10% para los aislados de *C. coli* de pollos de engorde (Figura 10).



N: número total de muestras reportadas en la Unión Europea

Figura 10. Sensibilidad y multirresistencia antimicrobiana en *C. coli* y *C. jejuni*, desde muestras animales durante el 2017/2018. Adaptado de EFSA y ECDC (2020).

En Italia las cepas de Campylobacter evaluadas desde piel y carne de pollo mostraron multirresistencia con un patrón de ciprofloxacina / tetraciclina / ácido nalidíxico, ciprofloxacina / tetraciclina / ácido nalidíxico, ciprofloxacina / tetraciclina / ácido nalidíxico / eritromicina (Casagrande *et al.,* 2018). La investigación de Wang *et al.* (2016) a partir de heces de pollos obtuvo multirresistencia mayor para *C. coli* comparado con *C. jejuni*. Por tanto *C. coli* puede tener una mejor adaptación y supervivencia en presión de selección de antimicrobianos. Una investigación realizada en niños entre 2009 y 2012 y controlados hasta tener los 5 años presentaron 56.8% (335 de 590) de cepas multirresistentes para *C. jejuni* y el 59.1% (176 de 298) en aislados que no fueron *C. jejuni* (Schiaffino *et al.,* 2019).

En África occidental se presentaron cepas con multirresistencia a partir de carne de pollo: 43 (55.8%) cepas de *Campylobacter* spp. (Kouglenou *et al.,* 2020). Anampa *et al*. (2020), en Lima estudió 120 muestras de carcasas de pollo, de las cuales 117 aislados dieron positivo a *Campylobacter* spp. identificándolo como *C. coli*, posterior a esto se evaluó la resistencia antimicrobiana para azitromicina, eritromicina y ciprofloxacina con la técnica de difusión en disco. Se obtuvo un resultado de 100 % de resistencia a los tres antimicrobianos. Estos datos alarmantes demuestran la frecuencia de cepas con multirresistencia en múltiples países del mundo.

2.6. Sensibilidad antimicrobiana

La gastroenteritis asociada a *Campylobacter spp.* es por lo general una enfermedad autolimitante con un tratamiento antimicrobiano no recomendado, a menos que sea un caso grave, situación que ocurre en personas inmunocomprometidas. El tratamiento farmacológico común

eran las fluoroquinolonas, como la ciprofloxacina que ha sido considerada la primera opción de tratamiento. Pero, por el auge masivo de los niveles de resistencia a antimicrobianos, otras opciones como los macrólidos y las tetraciclinas son opciones de primera línea para tratar esta patología (Shane *et al.,* 2017).

2.6.1. Métodos de Sensibilidad antimicrobiana

Los métodos de sensibilidad antimicrobiana son utilizados para evaluar el efecto de un microorganismo enfrentado a uno o más antimicrobianos. Se usan para brindar tratamientos con la selección de antimicrobianos apropiados y también es utilizado para tener un perfil de resistencia antimicrobiana de cepas bacterianas de la zona (CLSI, 2012).

Los métodos tienen establecido los puntos de corte para categorizar al microorganismo como sensible o resistente frente a un antimicrobiano, esto es definido por organizaciones como CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) en Estados unidos, guía muy popular donde se necesita ser miembro y dar dinero como pago, y la guía EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) usado en el continente europeo y accesible gratuitamente (Kassim *et al.,* 2016). Dentro de los métodos encontramos dos tipos de pruebas: cualitativa y cuantitativa.

Todas las pruebas por mencionar manejaran: medios de cultivo, antimicrobianos con concentraciones ya establecida en discos de papel o en gradiente y polvo antimicrobiano; el aislado bacteriano que debe estar fresco más el control de calidad.

2.6.1.1. Métodos cualitativos

Son aquellos métodos que permiten clasificar a los microorganismos como sensible, intermedio o resistente, con concentraciones antimicrobianas ya estandarizadas (CLSI, 2012).

2.6.1.1.1. Difusión en disco

Es la prueba cualitativa base de evaluación de sensibilidad bacteriana, también conocida como Kirby-Bauer. Es considerada la prueba de oro en laboratorio al ser una prueba rápida y fácil para obtener datos. En este método primero se siembra en las placas con agar según las necesidades del microorganismo. Posterior a eso, hace uso de discos impregnado con una concentración de antimicrobiano conocido, se colocan en el agar ya cultivado con la cepa, se incuba en las condiciones necesarias y finalmente se obtiene un halo de inhibición alrededor del disco. El diámetro del halo de inhibición se mide y se compara con la guía seleccionada y con los ATCC (American Type Culture Collection) del microorganismo (controles positivo y negativo), para poder ser clasificada como sensible, intermedia o resistente (Matuschek *et al.,* 2014). Su aplicación es sencilla, no necesita de equipos especiales, los resultados son fácil de interpretar, es un método económico y ya estandarizado, que permite evaluar varios microorganismos fácilmente, pero no indicado para determinar la concentración más baja que inhiba al antimicrobiano (CMI).

2.6.1.2. Métodos cuantitativos

Abarcan los métodos que determinan la CMI, definida como la concentración mínima de antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento *in vitro* del microorganismo a condiciones estandarizadas (CLSI, 2012). Conocer el CMI es útil para hacer vigilancia epidemiológica de las subidas de resistencia antimicrobiana de microorganismo resistentes y ayuda a determinar la eficacia de nuevos antimicrobianos.

2.6.1.2.1. Difusión en agar

Método donde las concentraciones de antimicrobiano son mezcladas con agar de crecimiento en placas, para que cada una tenga una cantidad distinta y progresiva de agente antimicrobiano; después se inocula al microorganismo con un replicador (CLSI, 2012). Este es un método simple y económico, que cuenta con inconveniente del tiempo, ya que necesitas la

formación de las colonias, pero se recomienda hacer los métodos de dilución por la facilidad (Schumacher *et al.,* 2018).

2.6.1.2.2. Macrodilución en caldo

Método antiguo, donde se emplea diluciones dobles seriadas de antimicrobiano mezclado con caldo de cultivos enriquecidos en tubos de ensayo. Estos tubos pasan a incubación, según las condiciones que necesitase el microorganismo y para determinar la CMI se toma en cuenta la turbidez del caldo, representando el crecimiento bacteriano. La desventaja del método es la tediosidad en la preparación de los inóculos y soluciones en grandes cantidades. (CLSI, 2012; Schumacher *et al.,* 2018).

2.6.1.2.3. Microdilución en caldo

Como vimos con el método anterior, el uso de grandes volúmenes de antimicrobiano, medio de enriquecimiento ocasiona un problema de insumos, es por esa razón que se formuló este método, microdilución en caldo o también llamado microdilución en placa, haciendo uso de microplacas plástica y estériles de 96 pocillos (12 x 8 pocillos), donde se evalúa 10 diluciones y dos pocillos de control de calidad, pequeños volúmenes de antimicrobiano, caldo de crecimiento enriquecido en caso la cepa bacteriana lo amerite, el cultivo bacteriano estandarizado a 0.5 McFarland y principalmente los polvos antimicrobianos que usan generalmente agua esterilizada para disolverlos, algunos antimicrobianos que son menos solubles deben de disolverse con una mínima cantidad para posteriormente hacer diluciones con agua, también se debe seguir las indicaciones del fabricante (Cuadro 1). El polvo antimicrobiano que obtenemos no es del todo puro, por eso se debe asegurar la potencia del antibiótico (Schwalbe *et al.,* 2007; Schumacher *et al.,* 2018). Las placas deben de sellarse para evitar la evaporación del caldo de cultivo. Después se procede a hacer diluciones dobles seriadas a los largo de los pocillos lo cuales deben de tener un rotulo que identifique la dilución y la cepa a trabajar La forma de determinar la CMI es evaluando la turbidez en los pocillos (CLSI, 2012). La CMI se determina con señales fluorescentes medidas con un lector de microplacas (Mavri y Smole, 2013) o a simple vista con

la observación de ausencia de crecimiento bacteriano o turbidez, se leerá en µg/mL y está estandarizado por el CLSI y EUCAST. Las ventajas más claras es la reducción de tiempo y espacio de trabajo (Schumacher *et al.,* 2018).

Cuadro 1. Solventes y diluyentes de antimicrobianos en polvo (CLSI M100, 2020)

Agente antimicrobiano	Solvente	Diluyente
Azitromicina	95% de etanol ácido acético glacial	Medio de cultivo o Agua
Ciprofloxacina	Agua	Agua
Eritromicina	95% de etanol o ácido acético glacial	Agua
Tetraciclina	Agua	Agua

2.6.1.2.4. E-test

E-test o epsilometría es un método simple, preciso y confiable, similar al método de difusión en discos. En este método en lugar de hacer uso de un disco con antimicrobiano, se utiliza una tira plástica no porosa con quince concentraciones decrecientes conocidas de antimicrobiano, la cual tiene por la cara principal la gradiente de concentraciones de lectura en µg/mL más el código del antimicrobiano (Syal *et al.,* 2017). En una placa de agar grande (150mm) pueden llegar a colocarse hasta seis y en una placa de agar pequeña (90 mm) hasta dos tiras (Figura 11). Estas deben estar de forma equidistante con la concentración más alta hacia el borde de la placa. Por la liberación inmediata del antimicrobiano, la tira no se puede desplazar una vez haya tenido contacto con el agar, si la tira se cayó con el lado de la escala hacia abajo, se puede levantar y dar la vuelta. Las condiciones de incubación en la mayoría de las bacterias son iguales al método de Kirby-Bauer. Tiras de Epsilometría deben almacenarse a - 20ºC y estar protegidas de la humedad. Antes de utilizar se deben dejar afuera de la congelación por 30 minutos (Schwalbe *et al.,* 2007).

La lectura de CMI es fácil de observar, se forma una zona de inhibición elipsoide y simétrica, el punto de corte, si cayese entre dos concentraciones, se debe escoger la concentración

más alta, si hay presencia de pequeñas colonias en las zonas de bajo crecimiento, puede indicar resistencia. Puede ser usada por una gran variedad de microorganismos son sus ventajas, sin embargo, son costosos (Schumacher *et al.,* 2018).

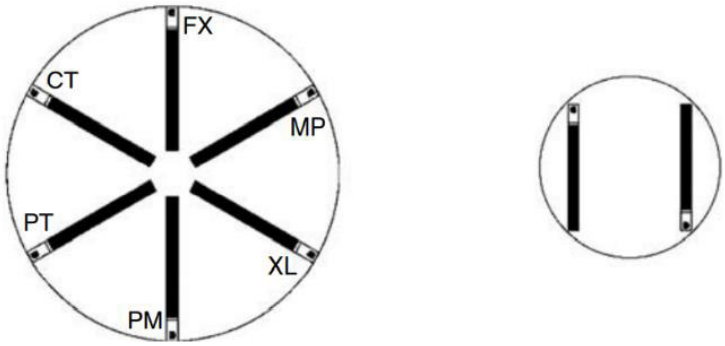


Figura 11. Distribución de tiras antimicrobianas en la placa Petri grande y pequeña, manteniendo la esquina de la tira con el rotulo del antimicrobiano hacia la periferia del agar.

2.8.3. Métodos moleculares

Estos métodos se usan para evaluar los genes que expresan resistencia antimicrobiana, puede usarse también en microorganismo fastidiosos, tiene menor riesgo biológico que los cultivos bacterianos, pero tiene contrapuntos como la baja sensibilidad si hay poca carga bacteriana, para cada antimicrobiano es necesario un kit y muchas veces se tienen que repetir varias veces, son costosos y no están estandarizados (Martínez-Martínez, 2003).

El PCR es una de las herramientas moleculares más efectivas y rápidas de cuantificación y obtención de genes bacterianos, se realizan ciclos de desnaturalización, hibridación de cebadores y elongación de cebadores. Cada ciclo de amplificación duplica el objetivo (Figura 12) (Khan *et al.,* 2019).

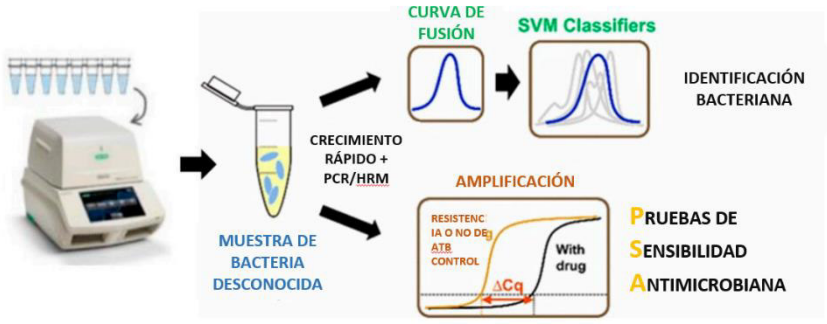


Figura 12. Proceso del método molecular por PCR-HRM. Adaptado de Khan *et al.,* 2019.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y tiempo de ejecución

El actual trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima-Perú y el tiempo de ejecución fue entre febrero a junio del 2022.

3.2. Diseño experimental u observacional

3.2.1. Origen de las muestras

El trabajo experimental se realizó con 106 muestras criopreservadas de *C. coli* identificadas por pruebas bioquímicas y PCR las cuales fueron aisladas de carcasas de pollo de mercados y supermercados de Lima-Metropolitana. Los aislados se mantuvieron conservados en viales tipo Eppendorf de 1.5 mL con Caldo Infusión de Cerebro-Corazón (BHI, por sus siglas en ingles Brain Heart Infusion) (Merck, Alemania) y glicerol (Central Drug House, India) en una proporción de 80:20 a una temperatura de -20 °C en el Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria de la FMV-UNMSM. Según la información obtenida del registro de las cepas del laboratorio, estas provienen de trabajos de investigación previos realizados entre el 2020 y 2021

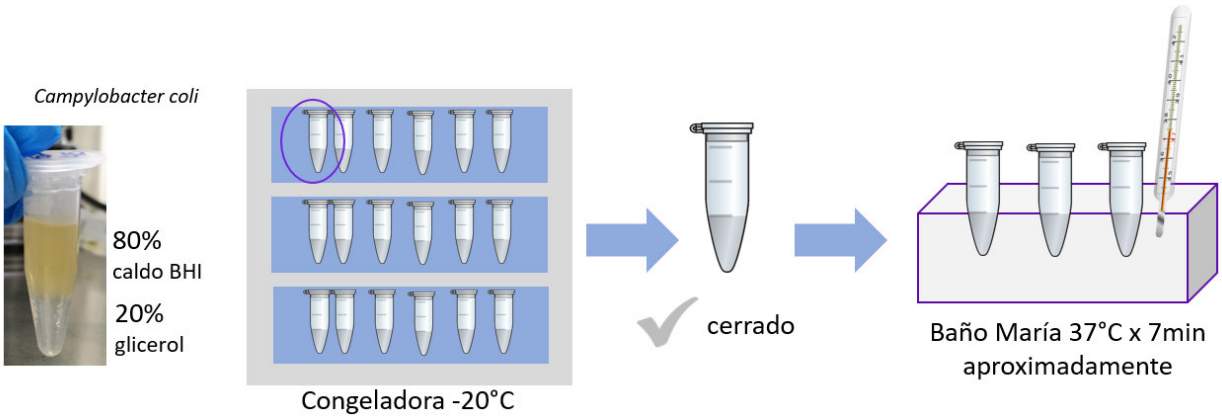
en el mismo laboratorio (Anexo 1). De las 106 cepas utilizadas, 52 fueron aisladas supermercados y 54 de mercados de Lima Metropolitana.

3.2.2. Procesamiento de las muestras

a. Reactivación de cepas de Campylobacter coli

Los crioviales se retiraron del congelador y se verificaron que los viales estén cerrados, íntegros y con la codificación correspondiente. Para el procesamiento se procedió a realizar descongelación en baño María (37°C) por 7 minutos, manteniendo una tasa de descongelamiento que no provoque la formación de cristales que dañen la célula (Castro, 2020). Posteriormente los crioviales se homogenizaron con vortex (VM-10, WITEG, Alemania) y su contenido se colocó en tubos de ensayo (Figura 13) con 3mL de caldo de cultivo BHI enriquecido con sangre desfibrinada de ovino al 5% (Botero *et al.,* 2018). Las muestras fueron llevadas a la incubadora (DHP-9162, BluePard, China) a 42°C por 36 a 48 horas en condiciones microaerófilas en la jarra de anaerobiosis 2.5 L (Oxoid®, Reino Unido) con un pack de microaerofilia (CampyGen, Thermo Scientific ™ OXOID™, Reino Unido), pasado este tiempo se procedió a retirar 100 µL del tubo y se colocó en placas Petri con Agar Desoxicolato Cefoperazona Carbón Modificado (mCCD) (Thermo Scientific™ OXOID™, Reino Unido), haciéndose una siembra por agotamiento. Las placas fueron puestas dentro de jarras de anaerobiosis junto con un pack de medio microaerófilo e incubadas por 48 horas a 42°C. Pasado este periodo las colonias fueron evaluadas macroscópicamente, las cuales se observarán de color grisáceas, planas y con un brillo metálico (Madigan *et al.,* 2015; OIE, 2018) y bajo un microscopio óptico (Leica, Reino Unido) a 100x se deben observar bacilos de forma espiralada con movimiento, pero en ocasiones por el tiempo o por otros factores de preservaciones tornan de forma cocoide y con menos movimiento (OIE, 2018). Las muestras que expresen crecimiento de bacterias con características correspondientes fueron utilizadas para la evaluación de resistencia antimicrobiana (ISO, 2017; Anampa *et al.,* 2020). Fueron considerados los controles de calidad positivo utilizando cepas de *Campylobacter*

jejuni ATCC® 33560 y *Campylobacter coli* ATCC® 43478 en presentación hisopo Kwik-Stick™ (Microbiologics, Inc., Estados Unidos) y control negativo con agua destilada.



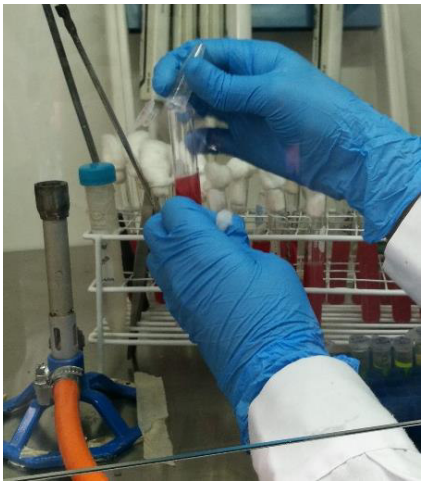


Figura 13. Proceso de descongelamiento de crioviales, proporción 80:20 de caldo de BHI y glicerol, para reactivación de muestras y colocación de muestra en tubo de ensayo para posterior incubación a 42°C por 36 a 48 horas en medio microaerófilo.

b. Evaluación de resistencia antimicrobiana con difusión en discos

Se evaluó con la técnica de Kirby-Bauer para lo cual se preparó una solución de 0.5 McFarland (Liofilchem, Italia) a partir de colonias frescas obtenidas del agar mCCD (Thermo Scientific™ OXOID™, Reino Unido). A partir de esta solución se procedió a hacer un estriamiento en placas de agar Müller-Hinton (Thermo Scientific™ OXOID™, Reino Unido) enriquecida con sangre desfibrinada de oveja al 5%. Seguidamente se colocaron los discos de antimicrobiano (Scientific™ Oxoid™, Reino Unido): eritromicina 15 µg (ERT), azitromicina 15

µg (AZT), tetraciclina 30 µg (TET) y ciprofloxacino 5 µg (CIP). Las placas fueron incubadas en las jarras en condiciones microaerófilas durante 48 horas a 42°C. Después de este periodo, se evaluaron las placas midiendo los halos de inhibición con una regla y clasificando a las cepas según las indicaciones del CLSI (2015) como: Sensible, donde existe inhibición de crecimiento bacteriano la cual se expresa con la formación de un halo alrededor del disco; No sensible o resistente, cuando el microorganismo supera al antimicrobiano y no se forma el halo de inhibición; e Intermedio, que indica que la cepa ha reducido su sensibilidad a los antimicrobianos (Cuadro 2). Algunas de estas actividades se presentan en la Figura 14.

Cuadro 2. Puntos de corte para evaluación de sensibilidad antimicrobiana con halo de inhibición en el método de difusión en disco, según CLSI (2015).

S: sensible; I: intermedio; R: resistente
*Tomando en cuenta valores de eritromicina según lo indicado en la guía.

Antibiótico	Concentración Disco (mg)	Diámetro (mm)		
		S	I	R
Eritromicina	15	≥16	13-15	≤12
Azitromicina*	15	≥16	13-15	≤12
Tetraciclina	30	≥26	23-25	≤22
Ciprofloxacina	5	≥24	21-23	≤20

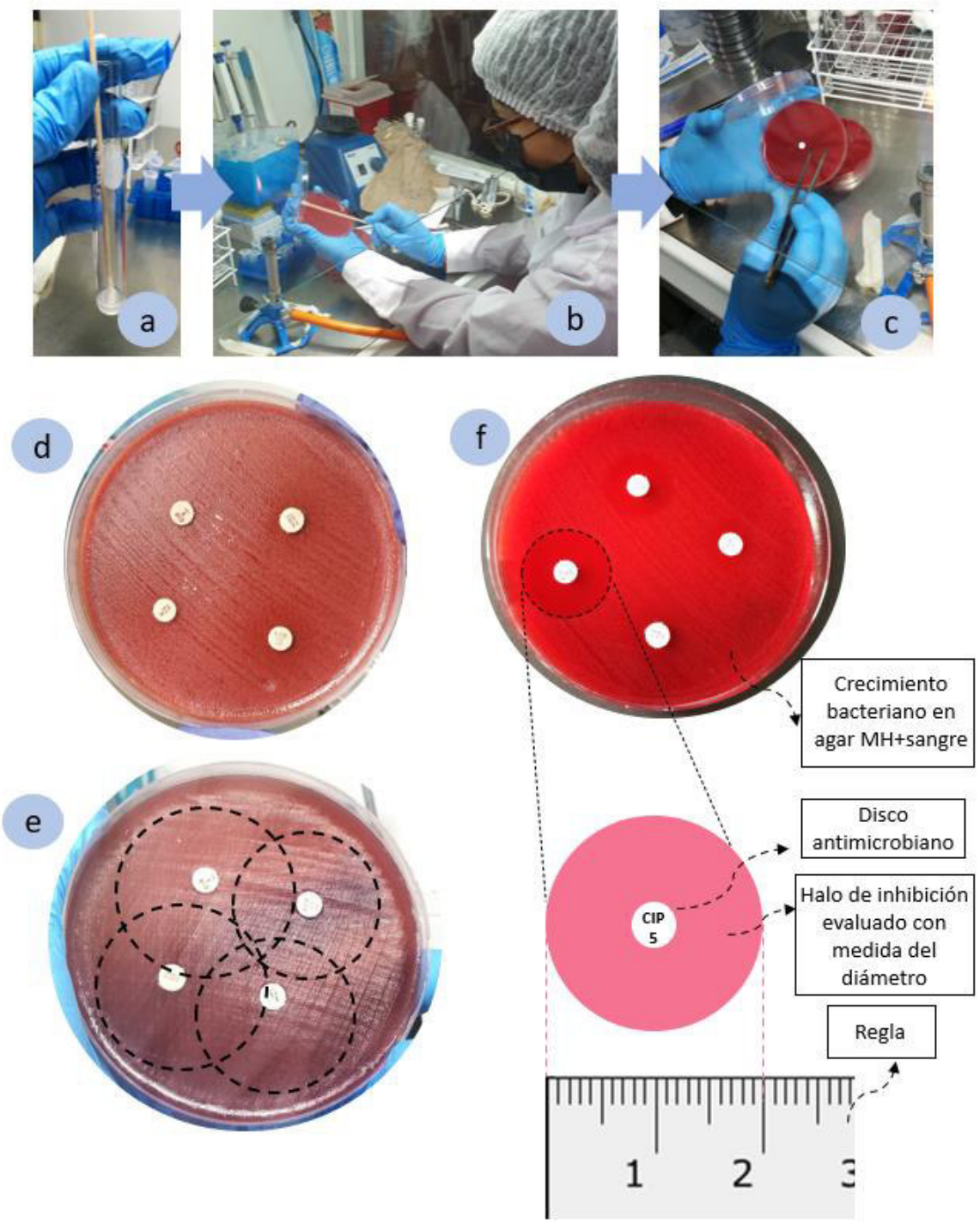


Figura 14. Actividades en la evaluación de resistencia antimicrobiana con difusión en discos. a. McFarland de muestra. b. sembrado con hisopo en agar MH c. colocación de disco antimicrobianos equidistantemente. d. Kirby-Bauer de una muestra resistente sin presencia de halo de inhibición. e. control positivo ATCC *C. jejuni* con presencia de halo de inhibición extenso. f. evaluación de medida de halo de inhibición y sus partes.

c. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por E-test

Para hacer el método de epsilometría o E-test se utilizaron tiras de plástico no poroso los cuales contienen distintas concentraciones de azitromicina (0.016 - 256 µg/mL, Liofilchem® Italia), tetraciclina (0.016 - 256 µg/mL, Liofilchem® Italia), ciprofloxacina (0.002 - 32 µg/mL, Liofilchem® Italia) en gradiente continua (Syal *et al.,* 2017), en las placas Petri que contienen agar Müller-Hinton enriquecida con sangre desfibrinada de ovino al 5%, con sembrado del microrganismo en parcela, la cantidad de tiras en una placa Petri pequeña (90 mm) fue de tres. Las tiras se colocaron de forma equidistante con la concentración más alta colocada hacia el borde de la placa. (Schwalbe *et al.,* 2007). Luego fueron llevados a incubación en jarras de anaerobiosis con packs de medio microaerófilia durante 24-48 horas a 42°C (Schumacher *et al.,* 2018). La interpretación de esta prueba es visual, evaluando una zona de inhibición de forma parabólica o elipsoide la cual tendrá un punto de intersección a lo largo de la lectura de tira la cual indica la CMI (Figura 15) (Khan *et al.,* 2019). Los criterios seguidos para establecer los puntos de corte que indican la CMI se basaron en las recomendaciones del CLSI (Cuadro 3). Es importante señalar que el E-test solo se realizó para 88 muestras; asimismo, para el grupo de los macrólidos fue considerada la azitromicina.

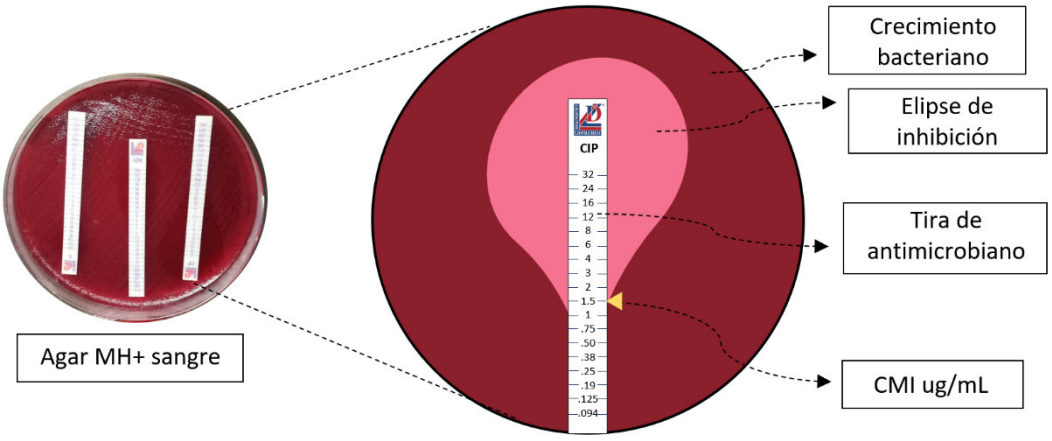


Figura 15. Evaluación de las partes de elipse de inhibición antimicrobiano en agar MH enriquecido con sangre de las pruebas de E-test.

Cuadro 3. Puntos de corte para evaluación de Concentración Mínima Inhibitoria para el método de microdilución en placa y E-test, según CLSI (2015).

Antimicrobiano	µg/mL		
	S	I	R
Eritromicina	≤8	16	≥32
Azitromicina*	≤8	16	≥32
Tetraciclina	≤4	8	≥16
Ciprofloxacina	≤1	2	≥4

S: sensible; I: intermedio; R: resistente. Cepas intermedias se consideran como "Resistentes" según lo recomendado por Paravisi *et al.* (2020) y Schreyer *et al.* (2022).
* Puntos de corte similares a eritromicina según los criterios indicados por CLSI.

d. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por microdilución en placa

Se prepararon soluciones iniciales de trabajo (solución stock) a partir de los estándares de antimicrobianos siguiendo las indicaciones de CLSI (2020) utilizando la siguiente fórmula:

$$concentración\ (ug/ml) = \frac{peso\ (mg) x\ potencia(ug/mg)}{volumen\ (ml)}$$

Donde*: Concentración*: valor deseado según guías; *Potencia:* cantidad de antimicrobiano según el grado de pureza que indique el estándar; *Peso:* valor que se disolverá y luego diluirá; *Volumen:* valor que diluirá el antimicrobiano (CLSI, 2020) (Cuadro 4).

En base a esto se obtuvo para azitromicina 1600 µg/mL (≥95%, Sigma-Aldrich, Estados Unidos), eritromicina 2048 µg/mL (≥85%, Sigma-Aldrich, Estados Unidos), ciprofloxacina 2048 µg/mL (≥98%, Sigma-Aldrich, Estados Unidos) y tetraciclina 2048 µg/mL (≥95%, Sigma-Aldrich, Estados Unidos).

Para la microdilución en placa se colocó 90 µL de caldo Müller-Hinton II (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) enriquecido con sangre desfibrinada de ovino al 5% en los 96 pocillos de una placa de microtitulación de fondo ovalado (Greiner BIO-ONE), después se colocó 90 µL de la solución stock de antimicrobiano en el primer pocillo y se realizaron diluciones seriadas con la micropipeta automática ajustable (Pipetman, GILSON®, Estados Unidos) en 90 µL en los siguientes 10 pocillos. Posteriormente se adicionó a cada pocillo 9µL de la solución de 0.5 McFarland de las cepas aisladas de *C. coli* (Schwalbe *et al.,* 2007; CLSI, 2015; Schumacher *et al.,* 2018), lo descrito está en la Figura 16.

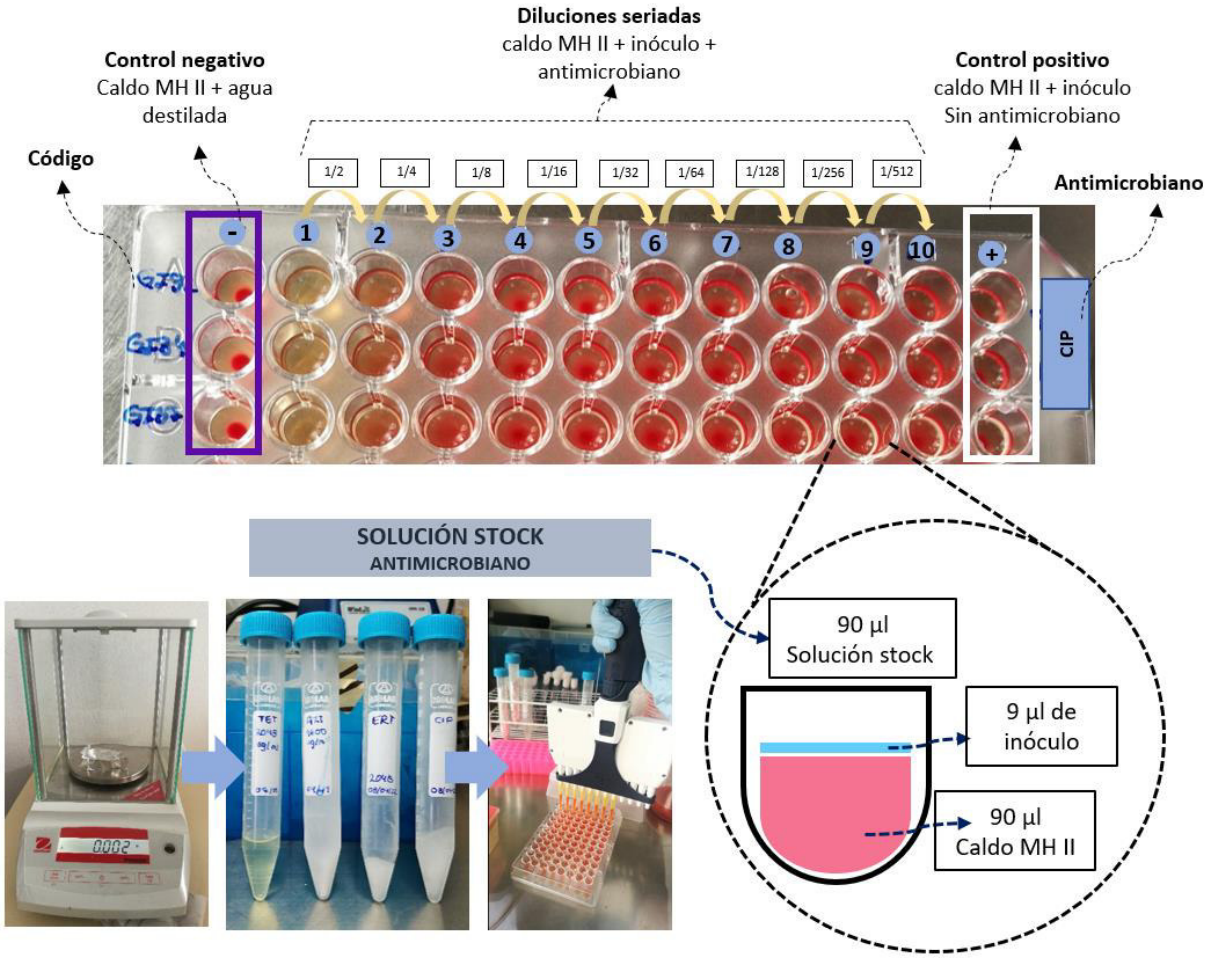
Cuadro 4. Indicación de solución y dilución de antimicrobianos usados en experimentación para alcanzar una concentración stock para realizar las diluciones seriadas.

Antibiótico	Solvente	Diluyente	Potencia	Concentración	Rango
Eritromicina	Ac. Acético	Agua	850 µg/mg	2048 µg/mL	2-1024 µg/mL
Azitromicina	Ac. Acético	Agua	950 µg/mg	1600 µg/mL	1.56-1600 µg/mL
Tetraciclina	Agua	Agua	959 µg/mg	2048 µg/mL	2-1024 µg/mL
Ciprofloxacina	Etanol	Agua	980 µg/mg	2048 µg/mL	2-1024 µg/mL

Las placas fueron cubiertas con papel film estéril (Darnel Wrap), colocadas en una jarra de anaerobiosis 9.5 L (Gaspack™ 150) con 3 Packs de medio de microaerofilia (CampyGen™ 2.5L Thermo Scientific™ OXOID™, Reino Unido), y llevadas a la incubadora durante 24-48 horas a 42°C. Fueron considerados los controles de calidad positivo utilizando cepas de *Campylobacter jejuni* ATCC® 33560 y *Campylobacter coli* ATCC® 43478 en presentación hisopo Kwik-Stick™ (Microbiologics, Inc., Estados Unidos) (Figura 17) y control negativo con agua destilada. Las placas de microtitulación fueron rotuladas con el número de cepa, los antimicrobianos, concentraciones y con los controles de calidad positivo y negativo (Schwalbe *et al.,* 2007 CLSI, 2015; Schumacher *et al.,* 2018). La CMI fue evaluada con la observación visual de las placas bajo la luz teniendo presente que el punto de corte es el pocillo donde no haya

crecimiento visible con turbidez o sedimentación en el caldo, se evaluó con ayuda de luz en fondo blanco y negro por debajo de la placa (Figura 18) (Schumacher *et al.,* 2018; Khan *et al.,* 2019).

Figura 16. Pocillos de placas de microdilución en placa con diluciones seriadas indicando que en



cada pocillo se encuentra el caldo Müller Hinton + sangre, la dilución de antimicrobiano y el inóculo.

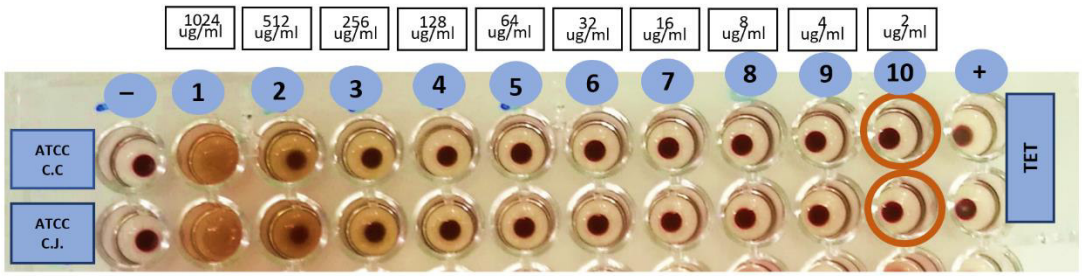


Figura 17. Microdilución en placa de ATCC, se observa las concentraciones de dilución. Ya no se observa el rectángulo blanco, debido a que hay una menor CMI indicada por el círculo marrón. Etiquetas azules son rótulos de las cepas evaluadas y el antimicrobiano.

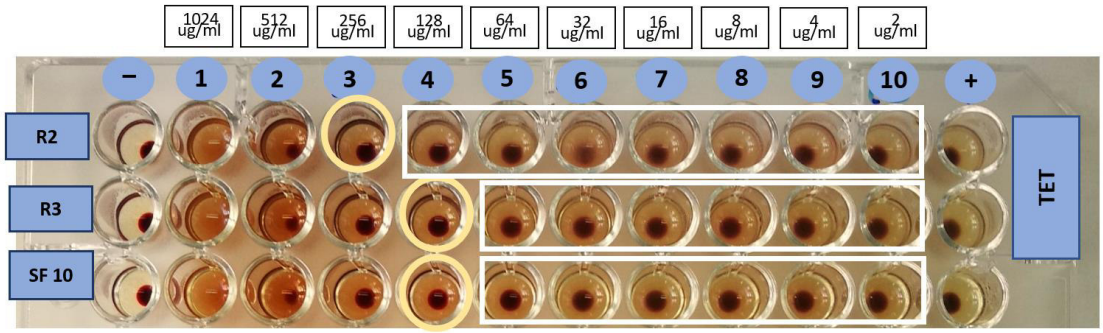


Figura 18. Microdilución en placa de tetraciclina, se observa las concentraciones de dilución. El rectángulo blanco indica turbidez lo que significa que no se ha inhibido el crecimiento bacteriano, el círculo amarillo indica que ya no hay turbidez, CMI. Etiquetas azules son rótulos de las cepas evaluadas y el antimicrobiano.

e. Evaluación de la condición de multirresistencia antimicrobiana

Para determinar el aislado como multirresistente debe de presentar resistencia a tres o más antimicrobianos de distintas familias farmacológicas según lo indicado por Jiménez *et al.* (2019) en el resumen de la reunión de Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) y la Red Interamericana de Laboratorios de Análisis de Alimentos en Uruguay en el mes de noviembre del año 2017. Es decir, debe presentar resistencia a la familia de macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas.

3.3. Diseño experimental u observacional

Los datos fueron almacenados, organizados y analizados en tablas utilizando Microsoft® Excel® para Microsoft 365 (Versión 2301) en Windows. Se aplicó estadística descriptiva haciendo uso de proporciones.

IV. RESULTADOS

4.1. Reactivación de cepas de Campylobacter coli

El número de cepas reactivadas de *C. coli* fue de 106 de las cuales 9 (8.49%) no presentaron crecimiento, estas pertenecían a muestras provenientes de carcasas de mercados. En total se obtuvo 97/106 (91.51%) muestras viables post proceso de reactivación. De estas, 52/97 muestras (53.61%) correspondían a cepas aisladas carcasas de supermercados y 45/97 muestras (46.39%) correspondían a cepas aisladas de carcasas de mercados.

4.2. Evaluación de la resistencia antimicrobiana con difusión en discos

La prueba Kirby-Bauer de evaluación de resistencia antimicrobiana evidenció que las cepas provenientes de supermercados (Cuadro 5) presentaron rangos de resistencia altos entre

94.23 a 100% para ciprofloxacino, eritromicina y tetraciclina, mientras que en el caso de azitromicina la resistencia fue de 40.39% (21/52). Por otro lado, las cepas aisladas de mercados (Cuadro 6) mostraron 95.56% (43/45) de resistencia para ciprofloxacina y un 80% (36/45) para azitromicina. Al realizar el análisis de todas las cepas (mercado + supermercado) se encontró una resistencia mayor igual a 94% para ciprofloxacina (94.85%, 92/97), eritromicina (97.94%, 95/97) y tetraciclina (100%, 97/97); y menor para azitromicina (58.76%, 57/97) (Cuadro 7), un ejemplo de representación se ve en la Figura 19 y Anexo 1.

Cuadro 5. Resultados de la prueba de Kirby Bauer de cepas de *C. coli* aisladas de supermercados (n=52) según el criterio de CLSI (2015).

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente
CIP	3.85% (2/52)	1.92% (1/52)	94.23% (49 /52)
ERT	1.92% (1/52)	1.92% (1/52)	96.15% (50/52)
AZT	19.22% (10/52)	40.39% (21/52)	40.39% (21/52)
TET	0% (0/52)	0% (0/52)	100% (52/52)

CIP: Ciprofloxacina (5 µg), ERT: Eritromicina (15µg); AZT: Azitromicina (15µg); TET: Tetraciclina (30µg).

Cuadro 6. Resultados de la prueba de Kirby Bauer de cepas de *C. coli* aisladas de mercados(n=45) según el criterio de CLSI (2015).

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente
CIP	2.22% (1/45)	2.22% (1/45)	95.56% (43/45)
ERT	0% (0/45)	0% (0/45)	100% (45/45)
AZT	4.44% (2/45)	15.56% (7/45)	80% (36/45)
TET	0% (0/45)	0% (0/45)	100% (45/45)

CIP: Ciprofloxacina (5 µg), ERT: Eritromicina (15µg); AZT: Azitromicina (15µg); TET: Tetraciclina (30µg)

Cuadro 7. Resultados de la prueba de Kirby Bauer del total de cepas de *C. coli* aisladas de mercados y supermercados (N=97), clasificadas según el criterio de CLSI (2015).

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente
CIP	3.09% (3/97)	2.06% (2/97)	94.85% (92/97)
ERT	1.03% (1/97)	1.03% (1/97)	97.94% (95/97)
AZT	12.37% (12/97)	28.87% (28/97)	58.76% (57/97)
TET	0% (0/97)	0% (0/97)	100% (97/97)

CIP: Ciprofloxacina (5 µg), ERT: Eritromicina (15µg); AZT: Azitromicina (15µg); TET: Tetraciclina (30µg). Se considera el término 'Intermedio' dentro de resistencia según lo recomendado por Paravisi *et al.* (2020) y Schreyer *et al.* (2022).

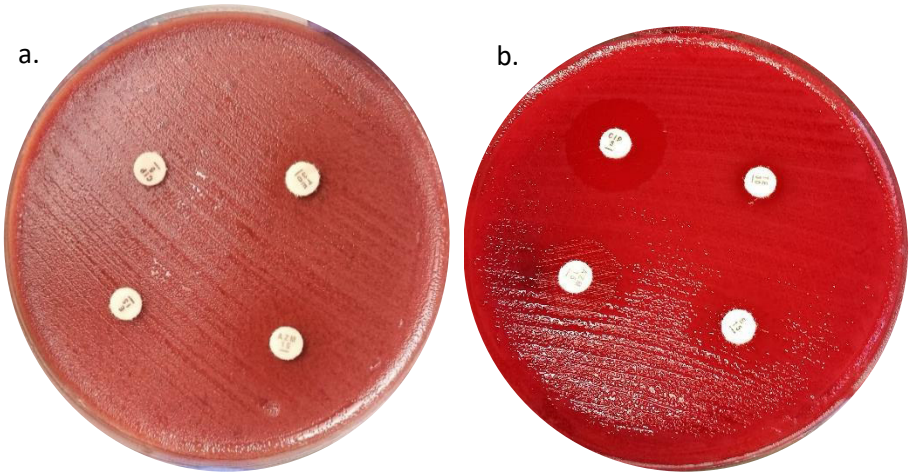


Figura 19. a. Kirby Bauer de una muestra resistente sin presencia de halo de inhibición para todos los antimicrobianos empleados; b. Kirby-Bauer de una muestra con presencia de halo de inhibición para los discos de antimicrobianos de azitromicina (15 mg), eritromicina (15 mg) y ciprofloxacina (5 mg), no se observa halo para tetraciclina (30 mg).

4.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por E-test

En la prueba cuantitativa E-test se obtuvieron los resultados presentados en el Cuadro 8 y Anexo 2. Con respecto a las cepas evaluadas con tiras de ciprofloxacina (0.002 – 32 µg/mL), se observó que el 88.64% (78/88) fueron resistentes; de estas se pudo observar que el 57.95% (51/88) presentaron puntos de corte por encima de la concentración más alta de la tira. Las cepas evaluadas con tiras de tetraciclina (0.016 - 256 µg/mL) presentaron un porcentaje de resistencia

de 100% (88/88) y para azitromicina (0.016 - 256 µg/mL) se encontró resistencia en el 78.41% (69/88) de muestras. También, 26.14% (23/88) y 29.55% (26/88) de cepas presentaron puntos de corte por encima de la concentración más alta de las tiras de tetraciclina y azitromicina, respectivamente. En la Figura 20 podemos observar algunos ejemplos de halos de inhibición para los antimicrobianos usados.

Al realizar el análisis por el origen de aislamiento de la muestra, se encontró en cepas aisladas de supermercados un 86.54% (45/52), 100% (52/52), 73.08% (38/52); mientras que para muestras de mercados se encontró un 91.67% (33/36), 100% (36/36), 86.11% (31/36) de resistencia para ciprofloxacina, tetraciclina y azitromicina.

Cuadro 8. Resultados y clasificación de sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) para las cepas de *Campylobacter coli* (N=88) según los criterios de CLSI (2015) para la prueba de E-test. Se divide por antimicrobianos y origen de toma de muestra, supermercado (n=52) y mercado (n=36). Ciprofloxacina (CIP), Tetraciclina (TET) y Azitromicina (AZT).

		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																				
		>32	32	24	16	12	8	6	4	3	2	1.5	1	.75	.50	.38	.25	.19-.002	R%	I%	S%	Moda CMI µg/mL
CIP	CLSI																					
	Supermercado	27	3	8	2	3	--	1	1	1	--	1	1	1	1	1	1	--	86.54	3.85	9.62	>32
	Mercado	24	--	2	2	--	3	--	2	--	1	1	--	1	--	--	--	--	91.67	5.56	2.78	>32
	Mercado + Supermercado	51	3	10	4	3	3	1	3	1	1	2	1	2	1	1	1	--	88.64	4.54	6.82	>32

		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																				
		>256	256	192	128	96	64	48	32	24	16	12	8	6	4	3	2	1.5-.016				
	CLSI																					
TET	Supermercado	4	1	10	21	8	3	4	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	128
	Mercado	19	3	4	4	2	2	1	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	>256
	Mercado + Supermercado	23	4	14	25	10	5	5	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	128

		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																				
		>256	256	192	128	96	64	48	32	24	16	12	8	6	4	3	2	1.5-.016				
	CLSI																					
AZT	Supermercado	10	--	3	4	7	4	5	5	6	5	1	2	--	--	--	--	--	73.08	23.08	3.85	>256
	Mercado	16	2	2	1	5	1	1	3	1	2	--	1	--	1	--	--	--	86.11	8.33	5.56	>256
	Mercado + Supermercado	26	2	5	5	12	5	6	8	7	7	1	3	--	1	--	--	--	78.41	17.05	4.55	>256

El color ▮ indica las concentraciones consideradas como resistentes, el color ▮ indica concentraciones consideradas como intermedias y la parte sin color indica concentraciones consideradas como sensibles.

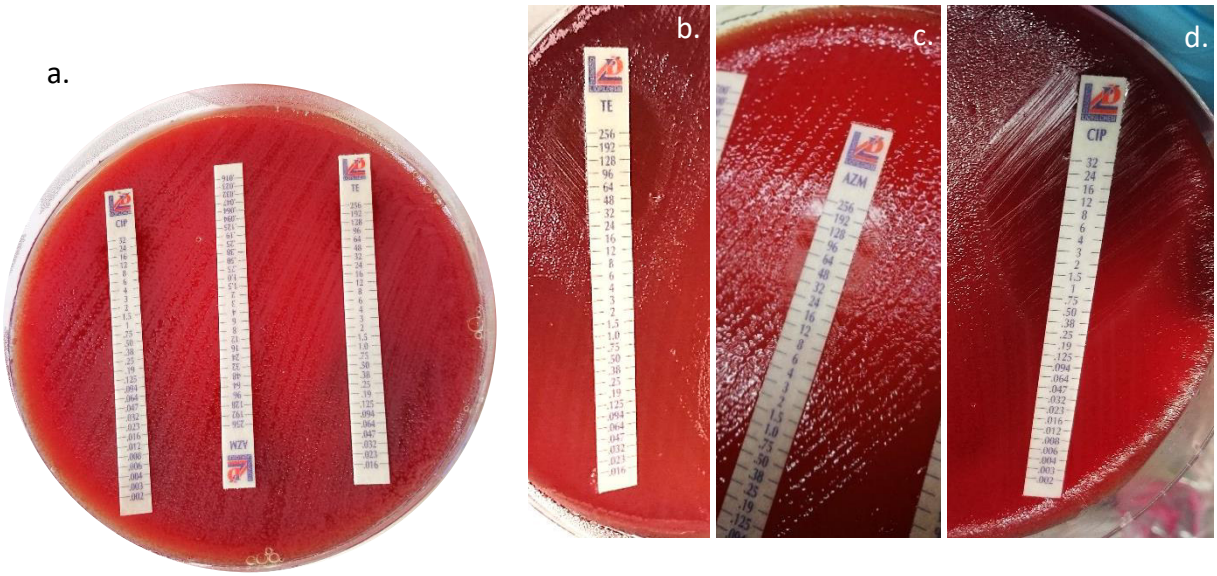


Figura 20. Fotos de placas Petri con agar MH enriquecido + tiras de antimicrobianos del método cuantitativo de E-test. a. placa sin observación de halo helicoidal alrededor de la tira, b. halo de inhibición para tetraciclina, c. halo de inhibición para azitromicina y d. halo de inhibición para ciprofloxacina.

4.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria por microdilución en placa

Los resultados de la prueba de microdilución en placa se describen en el cuadro 9 y Anexo 3. Para ciprofloxacina (2 – 1024 µg/mL) el 94.85% (92/97) de cepas evaluadas fueron resistentes, las cuales presentaron un rango de CMI entre 2 y 512 µg/mL. Solo 5.15% (5/97) de cepas fueron consideradas como intermedias y ninguna cepa fue sensible. Otros resultados interesantes revelan que la mayoría de las cepas (22.68%, 22/97) presentaron una CMI de 32 µg/mL y la CMI más alto fue 512 µg/mL, pero solo para 2 (2.06%) cepas.

Para tetraciclina y eritromicina (2 – 1024 µg/mL) se encontró un 100% (97/97); el CMI que más se repitió fue 256 µg/mL (41.24%, 40/97) y la CMI más alta para ambos antimicrobianos fue >1024 µg/mL. Hacer mención que la concentración >1024 ug/mL significa que aún se observó turbidez en el pocillo con mayor concentración antimicrobiana.

Es importante señalar que el criterio de CLSI no proporciona una CMI específica para azitromicina; sin embargo, se recomiendan que en el caso de otros macrólidos se use lo estipulado para eritromicina. El rango de concentración fue de 1.56 – 800 µg/mL, con 89.69% (87/97) de resistencia. El mayor porcentaje de muestras con CMI de 50 µg/mL y >800µg/mL fue de 16.49% (16/97) para cada una. Representado en la Figura 21.

Por otro lado, en las cepas aisladas de supermercados presentaron 90.38% (47/52), 100% (52/52), 100% (52/52), 82.69% (43/52) para ciprofloxacina, tetraciclina, eritromicina y azitromicina respectivamente. La CMI con mayor porcentaje para ciprofloxacina fue 32 µg/mL (28.85%, 15/52); para tetraciclina fue 256 µg/mL (46.15%, 24/52); para eritromicina fue de 128 µg/mL (38.46%, 20/52) y para azitromicina fue de 50 µg/mL (25%, 13/52). Para las cepas provenientes de mercados se encontró 100% (45/45) de resistencia para ciprofloxacina, tetraciclina y eritromicina, para azitromicina se presentó 97.78% (44/45). La CMI con mayor porcentaje fue 256 µg/mL para ciprofloxacina y tetraciclina, para eritromicina >1024 µg/mL y para azitromicina fue >800 µg/mL.

Cuadro 9. Resultados y clasificación de sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) para las cepas de *Campylobacter coli* (N=97), incluyen cepas de mercados y supermercados según CLSI (2015) para la prueba de microdilución en placa. Se divide por antimicrobianos y origen de toma de muestra, supermercado (n=52) y mercado (n=45). Ciprofloxacina (CIP; 2-1024 µg/mL), Tetraciclina (TET; 2-1024 µg/mL) y Eritromicina (ERT; 2-1024 µg/mL), Azitromicina (AZT; 1.56-800 µg/mL).

		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)													R%	I%	S%	Moda CMI µg/mL
		>1024	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5				
CIP	CLSI																	
	Supermercado	--	--	--	4	4	7	15	11	4	2	5	--	--	90.38	9.62	0	32
	Mercado	--	--	2	15	6	4	7	4	1	6	--	--	--	100	0	0	256
	Mercado + Supermercado	--	--	2	19	10	11	22	15	5	8	5	--	--	94.85	5.15	0	32
		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																
		>1024	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5				
TET	CLSI																	
	Supermercado	--	--	3	24	21	4	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	256
	Mercado	2	6	13	16	7		1	--	--	--	--	--	--	100	0	0	256
	Mercado + Supermercado	2	6	16	40	28	4	1	--	--	--	--	--	--	100	0	0	256
		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																
		>1024	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5				
ERT	CLSI																	
	Supermercado	--	7	10	11	20	4	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	128
	Mercado	29	3	7	4	2		--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	>1024
	Mercado + Supermercado	29	10	17	15	22	4	--	--	--	--	--	--	--	100	0	0	>1024
		Nº de cepas aisladas con valores de CMI (µg/mL)																
		> 800	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56						
AZT	CLSI									--	--	--						
	Supermercado	--	--	6	12	12	13	8	1	--	--	--			82.69	17.31	0	50
	Mercado	16	12	8	2	3	3	--	1	--	--	--			97.78	2.22	0	>800
	Mercado + Supermercado	16	12	14	14	15	16	8	2	--	--	--			89.69	10.31	0	50, >800

* El color ▮ indica las concentraciones consideradas como resistentes, el color ▮ indica concentraciones consideradas como intermedias y la parte sin color indica concentraciones consideradas como sensibles.

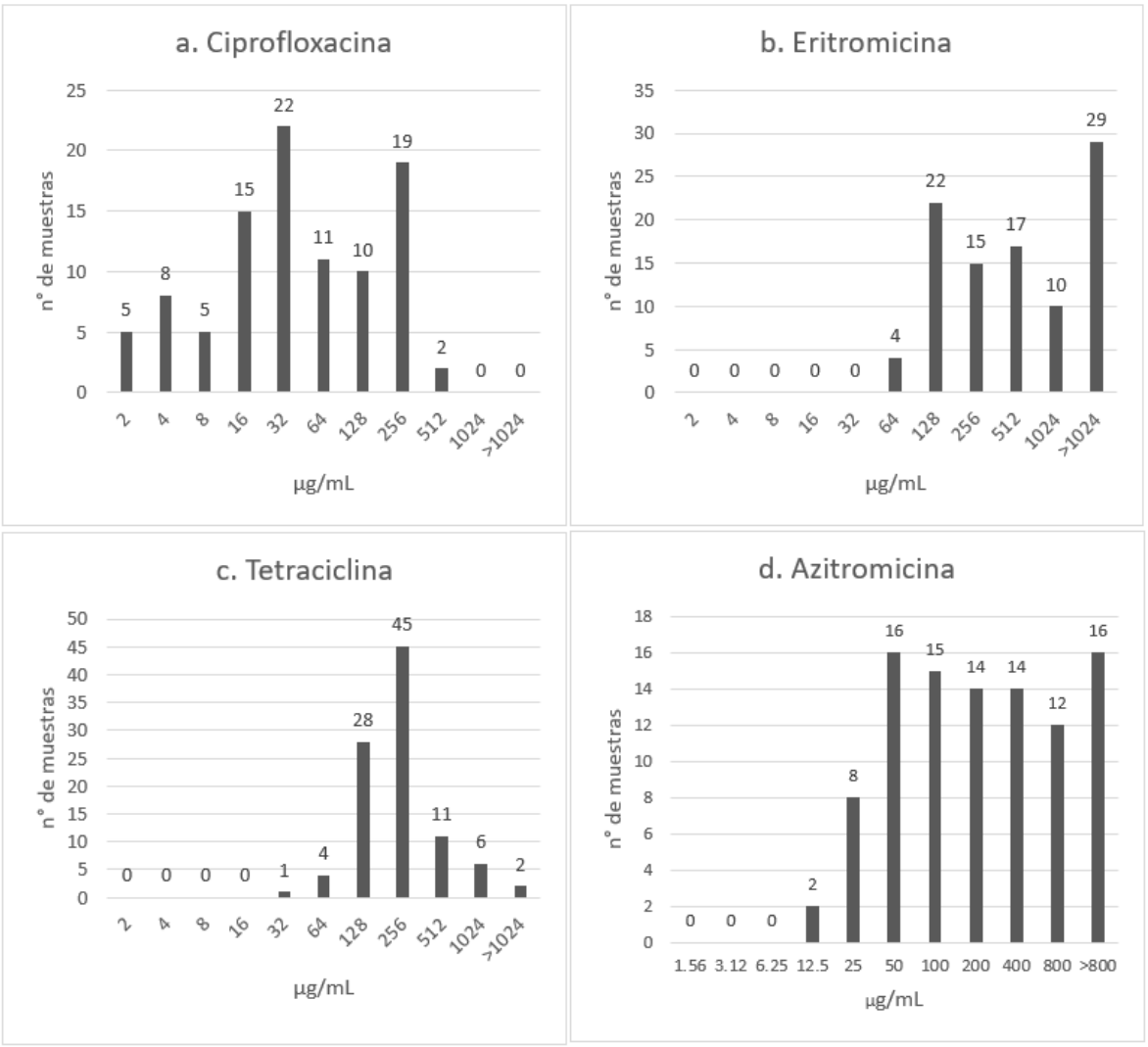


Figura 21. Resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cada antimicrobiano de las cepas de *Campylobacter coli* (n=97) obtenidas mediante el método de microdilución en caldo organizado en gráfico de barras de los antimicrobianos a. ciprofloxacina, b. eritromicina, c. tetraciclina, d. azitromicina.

Cuadro 10. Resumen de los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cepas de *Campylobacter coli* realizadas con los métodos de E-test y microdilución en placa. Valores numéricos expresados en µg/mL.

Antimicrobiano	Punto de corte CLSI (2015)	Método	Rango	Rango CMI	Mediana	Moda
Ciprofloxacina	≥4	E-test	4 - >32	0.25 - >32	>32	>32
		MDP	4 - 512	2 - 512	32	32
Tetraciclina	≥16	E-test	16 - >256	32 - >256	128	128
		MDP	32 - >1024	32 - >1024	256	256
Azitromicina	≥32	E-test	32 - >256	4 - >256	96	>256
		MDP	25 - >800	12.5 - >800	200	50, >800
Eritromicina	≥32	E-test	--	--	--	--
		MDP	64 - >1024	64 - >1024	512	>1024

MDP: Microdilución en placa. (--): No fue realizada la prueba de E-test para eritromicina.

4.5. **Evaluación de la condición de multirresistencia antimicrobiana**

Al hacer una indagación general de resistencia a los antimicrobianos se pudo determinar que varias cepas presentaban resistencia antimicrobiana simultánea. En el actual trabajo se toma como cepa multirresistente a la que presentaba resistencia a 3 o más antimicrobianos (Cuadro 10 y Figura 22). En el método de microdilución en caldo se obtuvo 84.54% (82/97) de resistencia a 4 antimicrobianos y en la prueba de Kirby Bauer un 56.70% (55/97). En el caso del E-test solo se realizó la evaluación de 88 cepas y 3 antimicrobianos, por ese motivo se obtuvo un 71.59% (63/88) de cepas con resistencia múltiple a estos 3 antimicrobianos. Se pudo encontrar que más del 55% de las cepas evaluadas presentaron resistencia a 4 antimicrobianos.

Cuadro 11. Cantidad de cepas con característica de multirresistencia en la prueba de Kirby Bauer, E-test y microdilución en placa. Ciprofloxacina (CIP), Tetraciclina (TET), Eritromicina (ERT), Azitromicina (AZT).

Antimicrobianos	cantidad	Kirby Bauer (n=97)		E-TEST (n=88)		Microdilución (n=97)	
		Nº Cepas	%	Nº Cepas	%	Nº Cepas	%
TET	1	0	0	4	4.55	0	0
TET-ERT	2	3	3.09	--	--	0	0
CIP-TET	2	2	2.06	15	17.05	0	0
TET-AZT	2	0	0	6	6.81	0	0
CIP-TET-ERT	3	35	36.09	--	--	10	10.31
TET-AZT-ERT	3	2	2.06	--	--	5	5.15
CIP-TET-AZT	3	0	0	63	71.59	0	0
CIP-TET-AZT-ERT	4	55	56.70	--	--	82	84.54

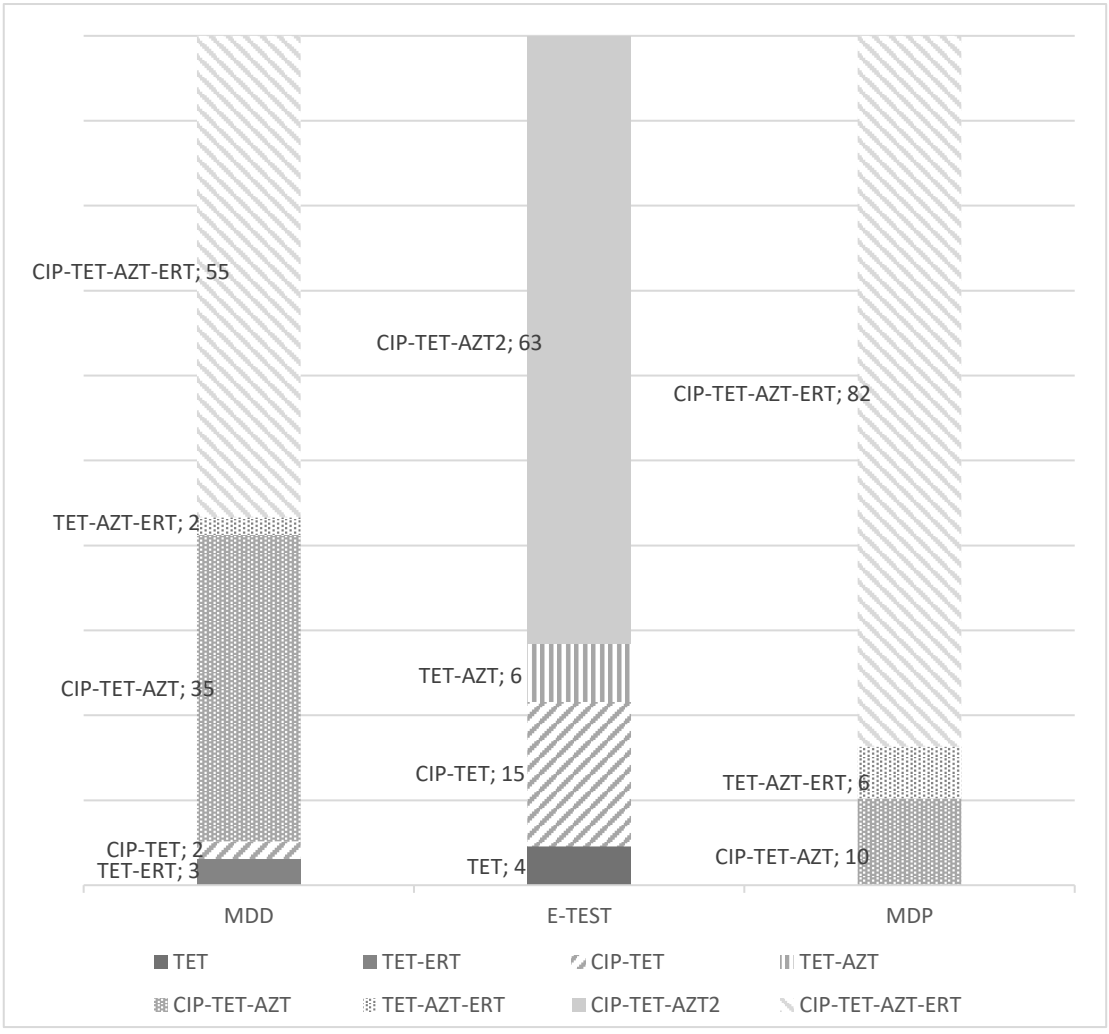


Figura 22. Cepas con resistencia a 1, 2, 3 y 4 antimicrobianos con el método de difusión en disco (MDD), E-test y microdilución en placa (MDP).

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvo un 91.5% de viabilidad de las cepas que fueron reactivadas, mediante el proceso de preservación mediante criopreservación a -20°C la cual tiene como objetivo mantenerlas viables a través del tiempo sin alterar fenotípica y genotípicamente las células de forma segura y económica. Según Simonin *et al.* (2021) temperaturas sobre 0°C pueden llegar a ser letales; asimismo, se usó glicerol en 20% como crioprotector clasificado en el grupo de bajo peso molecular o penetrantes, producto que ayuda a disminuir la formación de cristales de hielo intracelularmente (Garcia y Uruburu, 2010; Castro, 2020**)**. La descongelación se realizó a baño María a 37°C en 7 minutos, si el descongelamiento es lento se dará recristalización y si es rápido el calor terminará matando las células (Castro, 2020). Las 9 (8.49%) cepas que no fueron viables provenían de aislamientos de mercados, grupo que llevaba más tiempo en criopreservación (aproximadamente 2 años). No se puede presumir sobre el porqué de esta no viabilidad; sin embargo, situaciones como fallas eléctricas de los equipos de congelación,

crioviales dañados, forma de descongelación y medios para la reactivación de las cepas se enumeran entre las más probables (Castro, 2020).

Con respecto a la evaluación de sensibilidad antimicrobiana, en el presente estudio se describe porcentajes bastante elevados con la prueba de Kirby-Bauer, encontrándose 94.85% de resistencia para ciprofloxacina en el total de cepas evaluadas. Según Kouglenou *et al.* (2020) los valores de resistencia para este antimicrobiano varían entre 87 a 93.8% en Benín en cepas de *C. coli* aisladas de carne de pollo, estos valores son similares a lo evidenciado en este estudio (94.85%) relacionados al uso durante la producción en dosis subterapéuticas en caso de infecciones; en contra parte, esta lo encontrado por Ghaffoori Kanaan *et al.* (2022) donde muestran un 15% de resistencia para cepas de *C. coli* a partir de aves en Iraq, asociado a la restricción de fluoroquinolonas en avicultura.

En cuanto a la familia de los macrólidos, azitromicina obtuvo una resistencia de 58.76% eritromicina y eritromicina 97.94%, análogo a lo reportado por Kouglenou *et al.* (2020) y Ghaffoori Kanaan *et al.* (2022) quienes encontraron 97 y 95% de no sensibilidad para este mismo antimicrobiano en cepas de *C. coli* aisladas en carne de pollo en Benín e Iraq respectivamente, posiblemente por deficiencia de higiene en el manejo del centro de beneficio que originó la contaminación y la resistencia por el uso de macrólidos como tratamiento de primera elección para campilobacteriosis, además por posiblemente originada según Ghaffoori Kanaan *et al.* (2022) por los excrementos que son utilizados como fertilizantes, ya que de alguna forma después del metabolismo antimicrobiano continua la excreción de estos vía orina o fecas, continuando un ciclo que se repite continuamente. Santos-Ferreira *et al.* (2022) encontraron 26.9% de resistencia en cepas provenientes de gallinas ponedoras para eritromicina en Portugal, la cual fue evaluada en granjas convencionales y "free-range", indicando que en esta última es posible que las bacterias resistentes provengan del contacto directo con el ambiente y de los animales de alrededor. En el caso de la tetraciclina se tuvo un 100% de resistencia. Porcentajes altos entre 71.4 y 97.4% también han sido reportados en cepas provenientes de carcasas de pollo en Benín, Portugal y

Brasil, sugiriendo el manejo de la carne de pollo y la crianza traspatio de alto riesgo y en cuanto al consumidor, iniciar mejores prácticas de manipulación y cocción de la carne cruda. (Ferro *et al.,* 2015; Kouglenou *et al.*, 2020; Santos-Ferreira *et al.,* 2022).

Con la prueba de E-test, método similar a Kirby-Bauer, nos da la posibilidad de evaluar tanto la resistencia como la CMI (Syal *et al.,* 2017). En la presente investigación se encontró un alto número de cepas resistentes, para ciprofloxacina, abarcando un 88.64%, mientras que la CMI fue >32 µg/mL en más del 50% de las cepas evaluadas. Por otro lado, el 100 y 78.41% de las cepas fueron resistentes para tetraciclina y azitromicina respectivamente y ambos antimicrobianos presentaron algunas cepas con una CMI superiores a 256 µg/mL. Algunos estudios han reportaron porcentajes variables de resistencia para *Campylobacter* spp. provenientes de pollos de carne utilizando el E-test. Szczepanska *et al.* (2017) encontraron porcentajes bajos de resistencia para azitromicina (16.7%), eritromicina (3.7%), tetraciclina (31.5%) y ciprofloxacina (74.1%), la cual es usada indiscriminadamente como tratamiento de campilobacteriosis en humanos y los macrólidos se identifican como potenciales tratamientos en pacientes pediátricos en Polonia. Por otro lado, Gimenez *et al.* (2022) no encontraron resistencia para eritromicina ni tetraciclina, pero si un 22% de cepas resistentes a ciprofloxacina en Paraguay, estos bajos porcentajes probablemente sean atribuidos al adecuado manejo sanitario realizado y por la ubicación geográfica alejada de los pueblos que facilitó el cumplimiento de los protocolos de bioseguridad, aplicación de antimicrobianos en casos necesarios y rotación al usarlos. Sadeghi *et al.* (2022) determinaron una CMI de 25 µg/mL para tetraciclina y ciprofloxacina en Irán, esto fue 5 a 6 diluciones por debajo a lo encontrado en el presente trabajo, aun considerándose como resistente relacionado al uso de antimicrobianos de forma preventiva en la crianza de pollos. Tedersoo *et al.* (2022) evidenciaron variaciones en la CMI siendo los máximos valores para eritromicina (128 µg/mL), ciprofloxacina (16 µg/mL) y tetraciclina (64 µg/mL) en Estonia, pero obteniendo un CMI moda sensible para eritromicina y tetraciclina, el cual el estudio lo interpreta como un buen manejo de medidas de bioseguridad en producción de pollos de engorde que origina menor prevalencia de *Campylobacter* spp. y menor resistencia.

Con el método de microdilución en caldo se expresó para tetraciclina y eritromicina 100% de resistencia, 94.85% para ciprofloxacina y 89.69% para azitromicina. Gunasekaran *et al.* (2022) encontraron porcentajes de resistencia superiores a 60% para tetraciclina, eritromicina y azitromicina y 21.5% para ciprofloxacina en muestras de mucosa cecal de pollos en la India. Ya en cepas aisladas de carcasas de pollo y pato, Lee *et al.* (2017) obtuvieron 91.1% de resistencia para ciprofloxacina, 71.1% para tetraciclina y 4.4% para eritromicina en Corea del Sur; en este mismo país, Lim *et al.* (2016) reportaron 100% de resistencia para azitromicina solo para *C. coli* aislada en carne de pollos, asociándolo al uso de fluoroquinolonas y macrólidos como tratamientos rutinarios y preventivos en producción aviar, generando una selección de resistencia bacteriana. Por otro lado, la evaluación de cepas aisladas de pollos de carne en países europeos se reportaron niveles de resistencia entre 70 a 96.1% para ciprofloxacina y de 57.9 a 70% para tetraciclina, resultados muy cercanos a lo encontrado en este estudio (89.60 a 100%), por el aumento de venta y uso de fluoroquinolonas en medicina veterinaria; mientras que para eritromicina se reportó entre 0.6% a 30% en Italia, donde es usada para tratamientos como mycoplasmosis y clostridiosis (Pergola *et al.,* 2017) y Polonia los usaba como tratamiento inicial de campilobacteriosis en humanos (Wieczorek *et al.,* 2018), respectivamente.

La evaluación de CMI por el método de microdilución en placa evidenció que la CMI más alta para ciprofloxacina fue >1024 µg/mL y la más baja fue de 2 µg/mL, concentraciones clasificadas como resistente e intermedio según CLSI, mientras que el 22.68% de las cepas presentaron una CMI de 32 µg/mL quienes encontraron este resultado coincide con lo demostrado por otros autores como Quino *et al.* (2022) quienes encontraron cepas de *C. coli* con una CMI para ciprofloxacina de 32 µg/mL. Por su parte Van Looveren *et al.* (2001) encontraron cepas de *C. coli* aisladas de hisopados de carne de cerdos con una CMI de 32 µg/mL y en pollos con valores de 64 µg/mL en Bélgica, los cuales lo relacionan a la introducción de fluoroquinolonas en producción veterinaria, concentración más alta a la obtenida en la presente investigación. Mientras que Sierra-Arguello *et al.* (2018) encontraron cepas de *C. coli* con una CMI de 32 µg/mL

en cepas aisladas en agua de lavado de pollo en Brasil, todas con valores considerados resistentes según CLSI, haciendo consideración de la falta de limitaciones antimicrobianos en crianza animal. Zhang *et al.* (2022) y Suman Kumar *et al.* (2021) también obtuvieron cepas de *C. coli.* con una CMI de 32 µg/mL a partir de muestras de pollo, heces e hisopados del ambiente del matadero en China y la India. Contrariamente, también se reportan valores de CMI bajos en el estudio de Marotta *et al.* (2015), CMI de 4 µg/mL en cepas provenientes de ciegos, cloaca y carcasas de pollos en Italia; mientras que Paravisi *et al.* (2020) y Vinueza-Burgos *et al.* (2017) obtuvieron valores de CMI de 16 µg/mL en Brasil y Ecuador, respectivamente. Estudios que sugieren que el uso de agentes antimicrobianos como promotores de crecimiento y tratamientos terapéuticos en dosis subterapéuticas en animales con el pasar de los años incrementa el nivel de resistencia de *Campylobacter* spp.

Para tetraciclina y eritromicina la mayoría de las cepas evaluadas presentaron una CMI de 256 µg/mL (41.24%) y >1024 µg/mL (29.90%) respectivamente. Estos resultados fueron superiores a lo reportado en otros estudios que evaluaron cepas de *Campylobacter* spp. aislados de pollos y presentaron valores de CMI entre 64 y 128 µg/mL para tetraciclina y eritromicina, teniendo como consideración a los pollos como fuente principal de *Campylobacter* resistente causante de enfermedad y recomendando el control en toda la cadena de producción (Paravisi *et al.,* 2020; Hull *et al.,* 2021; Suman Kumar *et al.,* 2021; Zhang *et al.,* 2022). En el Perú, Quino *et al.* (2022) encontraron cepas de *C. coli* en muestras de humanos y de pollos y reportaron porcentajes de resistencia entre 52% a 100% con una CMI para eritromicina y tetraciclina >128µg/mL. Por último, para la azitromicina, familia de los macrólidos la cual no tiene criterio establecido en CLSI, se usaron los puntos de corte de eritromicina; con esta premisa se obtuvo valores de CMI de 50 hasta >800 µg/mL en más del 80% de cepas evaluadas. Estas concentraciones fueron más altas en comparación a lo encontrado por Zhang *et al.* (2022) quienes reportaron una resistencia de 60.28% y una CMI de 0.5 hasta > 64µg/mL en casi el 80% de cepas provenientes de carne de pollo fresca en China. De igual forma, Hull *et al.* (2021) reportaron una

resistencia de 28% y valores de CMI entre 0.03 y 0.12 µg/mL en cepas a partir de carcasas de pollo en Estados Unidos.

Resaltar que se consideró los puntos de corte de resistencia para *Campylobacter* spp. según los criterios de CLSI, la cual al igual que el criterio de EUCAST deberían usarse como guía de evaluación del posible tratamiento a escoger en situaciones clínicas (Goyal *et al.,* 2021). Esto también se podría aplicar para la evaluación de la resistencia de cepas aisladas en la cadena productiva avícola (Paravisi *et al.,* 2020).

El estudio evidenció un alto porcentaje (40 a 100%) de cepas con resistencia antimicrobiana en Lima Metropolitana, resultados preocupantes ya que la resistencia antimicrobiana en la producción aumenta la morbilidad y mortalidad animal, además disminuye la eficiencia de la producción. El uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento, tratamientos innecesarios o mal aplicados por inadecuada distribución de medicación entre todos los animales, fármacos vencidos, no llegar a término de tratamientos o extenderlos, malas dosificaciones (Avrain *et al.,* 2003; Gatica y Rojas, 2018) son las principales causas para generar resistencia antimicrobiana y generar consecuencia en la salud humana. Esta condición de cepas resistentes también es peligrosa evaluando desde el concepto de salud pública, puesto que estas bacterias pueden llegar al humano por deficiencias en la manipulación o por contaminación cruzada. Gatica y Rojas (2018) mencionaron que los trabajadores en contacto directo con aves tratadas con antimicrobianos eran 32 veces más propensos al contagio con cepas resistentes de *E. coli*.

Es importante señalar que *Campylobacter* spp. resistente a fluoroquinolonas se encuentra ubicado en el segundo nivel de la lista de patógenos de importancia en la resistencia antimicrobiana, considerado un microorganismo de prioridad elevada. Esto indica la necesidad de realizar un adecuado monitoreo y control. Según la OMS (2020) la ciprofloxacina es usada comúnmente en humanos con campilobacteriosis, mientras que la enrofloxacina es usada

ampliamente en la producción avícola (Paravisi *et al.,* 2020). Este uso de fluroquinolonas en humanos y animales de producción puede ser un factor de riesgo para el incremento de la resistencia. Van Looveren *et al.* (2001) encontraron niveles elevados de resistencia a *C. coli* relacionado a la introducción de quinolonas en la avicultura en Bélgica; por otro lado, Sierra-Arguello *et al.* (2018) resaltan la necesidad de restringir el uso de agentes antimicrobianos en los animales de consumo al encontrar porcentaje elevado tanto en humanos como en aves de corral en Brasil. El aumento de resistencia a macrólidos y tetraciclinas está relacionado al uso de tilosina, espiromicina, oxitetraciclina, entre otras, disponibles en farmacias veterinarias y dispensadas en la comida y/o agua de bebida como promotores para crecimiento en la industria avícola; esto pueden favorecer a la aparición de resistencia con fármacos de estos grupos usados en medicina humana como la eritromicina, oxitetraciclina y doxiciclina (Linn *et al.,* 2021; Paravisi *et al.,* 2020).

En el Perú existen pocos reportes actualizados sobre los casos de campilobacteriosis y estudios de resistencia, solo se reportan datos del MINSA en boletines epidemiológicos donde la engloba dentro de las EDA, reportándose resistencia en hospitales a partir de muestras de heces de niños. Pollett *et al.* (2012) reportaron que cepas de *Campylobacter* spp. aisladas a partir de fecas de niños en Lima, Cuzco e Iquitos presentaron resistencia para ciprofloxacina, azitromicina y eritromicina. Schiaffino *et al.* (2019) reportaron que *C. jejuni* aislado de heces de niños en Iquitos presentaron 77.4% de resistencia para ciprofloxacina, 5.3% para eritromicina, 4.9% para azitromicina, 55.8% para tetraciclina. Algo que resaltar es que se identificó otras especies las cuales tuvieron un porcentaje mayor en macrólidos, eritromicina 25.2% y azitromicina 24.8%, para ciprofloxacina 79.8%, lo que podría indicar que dentro de este grupo esta *C. coli* mostrando niveles elevados de resistencia.

Los tres métodos de sensibilidad antimicrobiana para conocer la resistencia de *C. coli*, evidenciaron 100% de resistencia para tetraciclina ciprofloxacina (84.64 a 94.85%), azitromicina (58.76 a 97.94%) y eritromicina (97.94 a 100%). Podemos concluir que, todos los métodos

utilizados tuvieron una respuesta similar con excepción de la azitromicina. Según Paravissi *et al.* (2020) la comparación de métodos de evaluación es un desafío ya que existe mucha variación en procedimientos, parámetros e interpretación de resultado. Al-Natour *et al.* (2016), por ejemplo, evaluaron en hisopados de cloaca de pollos la sensibilidad en cepas de *C. jejuni* mediante el método de microdilución en caldo y la de difusión en disco y determinaron que a pesar de que ambas metodologías expresaban resultados concordantes, la metodología de difusión en disco es flexible, conveniente y menos laboriosa y que podría ser utilizada como una prueba rápida inicial, aunque se deben realizar estudios adicionales para evaluar los puntos de corte. Por otro lado, Luber *et al.* (2003) compararon los métodos de microdilución en caldo, E-test y la de dilución en agar para evaluar la susceptibilidad de varios antimicrobianos en cepas de *C. coli* y *C. jejuni*, se demostró que los tres métodos son adecuados para la evaluar la susceptibilidad, pero solo en tetraciclinas; asimismo, la prueba de microdilución en placa tiene la facilidad de evaluar varios antimicrobianos a concentraciones altas de forma sencilla pero laboriosa y también económica para uso rutinario en la determinación de la CMI a diferencia del método de E-test que es fácil de hacer, similar a difusión en disco, pero en tema de costos es mayor.

La resistencia a tres o hasta doce antimicrobianos de distintas familias farmacológicas son consideradas cepas multirresistentes o multidrogo-resistentes (MDR) según lo indicado por Jiménez *et al.* (2019). Los resultados del actual trabajo se presentan en 84.54% de resistencia a los 4 antimicrobianos con la prueba de microdilución en placa, porcentajes muy por encima a lo reportado por otros estudios que evaluaron resistencia en cepas de *Campylobacter* spp. en aves. Casagrande *et al.* (2018) determinaron que el 40% de las cepas de *C. coli* en cepas aisladas de piel de muslo de pollo eran MDR para los mismos fármacos evaluados en el presente estudio menos para azitromicina. Tedersoo *et al.* (2022) se encontraron resistencia para 4 antimicrobianos en el 43.9%, 12.5% y 30.8 % de cepas aisladas en Argelia, Letonia y Lituania, respectivamente. Choi *et al.* (2021) encontraron resistencia a cuatro antimicrobianos en 16% de las cepas evaluadas en Corea del Sur; mientras que, en la India, Gunasekaran *et al*. (2022) reportaron que el 78.57% de las cepas evaluadas tenían resistencia simultánea hasta 6 antimicrobianos, incluyendo a

azitromicina, siendo este porcentaje uno de los más cercanos a lo encontrado en la actual investigacion. Sadeghi *et al.* (2022) reportaron que hay una alta resistencia simultánea a Ciprofloxacina-Tetraciclina-Eritromicina, esto coincide con lo determinado en el presente trabajo.

Debido a estos reportes de multirresistencia diversos países han implementado medidas correctivas y preventivas. Asimismo, debido a estas restricciones se ha incrementado la demanda de alimento sin antimicrobianos para animales de producción (Melo *et al.,* 2019). Países como Japón también han experimentado esta reducción de la resistencia debido a la implementación de correctas prácticas de manipulación y la aplicación de medidas de bioseguridad en producción para disminuir el uso de antimicrobianos (Linn *et al.*, 2021). En contraposición, muchos países subdesarrollados como el Perú aún no cuentan con un programa integrado de monitoreo de resistencia de patógenos principalmente zoonóticos como *Campylobacter* (OMS, 2023; Collado, 2020; Paravisi *et al.,* 2020). A pesar de que ya en Sudamérica hay datos que afirman infecciones humanas y se conoce la gravedad de la campilobacteriosis originada a partir del alimento como la carne de pollo, no se ha trabajado en generar medidas de solución y si se dan tienen grandes vacíos y fallas. Los programas de vigilancia ayudarán a identificar el problema, la gravedad y así tomar decisiones e implementar medidas (Gatica y Rojas, 2018).

En el presente estudio las cepas categorizadas como intermedias fueron consideradas como resistentes, esto debido a que si son consideradas como sensibles tendrán como respuesta una sensibilidad reducida dentro del rango de antimicrobianos establecido en los criterios, esto podría ser un factor de riesgo en la salud pública (Paravisi *et al.,* 2020; Schreyer *et al.,* 2022). A la evaluación, los valores intermedios incrementaron el porcentaje de resistencia, con el método de difusión en disco se presenta la ciprofloxacina con un aumento de 2.17%, tetraciclina sin variación, azitromicina incrementó un 49.13% y eritromicina en 1.05%, llegando a alcanzar los porcentajes de resistencia de 96.91, 100, 87.63 y 98.97%, respectivamente. En la prueba de E-test ciprofloxacina aumentó en 12.82%, tetraciclina no varió y azitromicina aumentó en 21.73%,

alcanzando así 93.18, 100, 95.45%. Finalmente, con el método de microdilución en caldo, ciprofloxacina aumentó en 5.43%, azitromicina en 11.50%, eritromicina y tetraciclina no variaron, llegando los dos primeros antimicrobianos a tener una resistencia de 100% (revisar Anexo 5).

VI. CONCLUSIÓN

La concentración mínima inhibitoria para las 97 cepas de *Campylobacter coli* viables provenientes de carne de pollo en mercados de Lima Metropolitana fue de 32 µg/ml para ciprofloxacina en el 22.7% (22/97), más de 1024 µg/ml para eritromicina en el 29.9% (29/97), 50 µg/ml y más del 800 µg/ml para azitromicina en el 16.5% (16/97) para cada concentración y 256 µg/ml para tetraciclina en el 41.2% (40/97), resultados superiores a lo reportado en estudios similares. Esto indica que existe una tendencia a incrementar la cantidad de antimicrobianos necesario para contrarrestar las cepas de campo de *Campylobacter coli.*

VII. RECOMENDACIONES

- Debe realizarse un continuo monitoreo de la resistencia y evaluación periódicamente de los valores de la CMI para *Campylobacter* spp en productos avícolas en el Perú.
- Se recomienda para la determinación de la CMI el método de microdilución en caldo ya que es más económico que el E-test y se obtienen resultados similares.
- Se debe evaluar cual es el origen de la resistencia antimicrobiana, es por eso que el estudio debería realizarse en cepas aisladas directamente del tracto digestivo de las aves en centros de producción avícola convencional y/o ecológica, para conocer evaluación de el origen de la multirresistencia.
- Es necesario que grupos de investigación en salud humana evalúen la presencia de *Campylobacter* spp. en personas que trabajan en la cadena productiva de pollos de carne, su resistencia, determinar su CMI para poder hacer una correlación con los resultados presentados.

VIII. LITERATURA CITADA

1. ***Actualidad avícola. 2020.*** Cae entre un 10% y 15% el consumo de pollo durante la cuarentena [Internet], [20 febrero 2023]. Disponible en: https://actualidadavipecuaria.com/senasa-cae-entre-un-10-y-15-el-consumo-de-pollo-durante-la-cuarentena/#:~:text=En%20cuanto%20a%20este%20a%C3%B1o,de%20la%20pandemia%20de%20coronavirus
2. ***Al-Natour M, Alaboudi A, Osaili T, Obaidat M. 2016.*** Resistance of Campylobacter Jejuni Isolated from Layer Farms in Northern Jordan Using Microbroth Dilution and Disc Diffusion Techniques. J Food Sc. 81 (7): p 1749–1753. doi: 10.1111/1750-3841.13363.
3. ***Anampa D, Christian B, Lázaro C, Espinoza J, Angulo P, Díaz D, Manchego A, Rojas M. 2020.*** Detection of the ErmB Gene Associated with Macrolide Resistance in Campylobacter Strains Isolated from Chickens Marketed in Lima, Peru. *Rev Panam Salud Pública* 44(1): 1p. doi: 10.26633/RPSP.2020.60
4. ***Ardoino S, Toso R, Toribio M, Álvarez H, Mariani E, Cachau P, Mancilla M, Oriani D. 2017.*** Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo. Cienc Vet. 19 (1): p 50–66. doi: 10.19137/cienvet-20171914.
5. ***Avrain L, Humbert F, L'Hospitalier R, Sanders P, Vernozy-Rozand C, Kempf I. 2003.*** Antimicrobial resistance in Campylobacter from broilers: Association with production type and antimicrobial use. Vet Microbiol. 96 (3): p 267–276. doi:10.1016/j.vetmic.2003.07.001.
6. ***Baali M. 2020.*** Prevalence, seasonality and antimicrobial resistance of thermotolerant Campylobacter isolated from broiler farms and slaughterhouses in East Algeria. Veterinary World, 13 (6): p 1221–1228. doi: 28. https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2020.1221-1228
7. ***Bai Y, Lin X, Zhu J, Cui S, Guo L, Yan S, Wang W. 2021.*** Quantification of Cross-Contamination of *Campylobacter jejuni* during Food Preparation in a Model Kitchen in China. J Food Prot. 84 (5): p 850–856. doi:10.4315/JFP-20-280.
8. ***Biesta-Peters E, Jongenburger I, de Boer E, Jacobs-Reitsma W. 2019.*** Validation by interlaboratory trials of EN ISO 10272 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 1: Detection method. Int J Food Microbiol. 288: p 39–46. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.007.
9. ***[BCM] Bolsa mercantil de Colombia. 2023.*** Análisis de producto sector avícola. [Internet], [14 diciembre 2023]. Disponible en: **https://www.bolsamercantil.com.co/sites/default/files/2023-05/Informe%20sector%20av%C3%ADcola%20-%20Final%20difusi%C3%B3n_0.pdf**

10. ***Bolton D. 2015.*** Campylobacter virulence and survival factors. Food Microbiol. 48: p 99–108. doi:10.1016/j.fm.2014.11.017.
11. ***Borges K, Cisco I, Furian T, Tedesco D, Rodrigues L, do Nascimento V, dos Santos L. 2020.*** Detection and quantification of Campylobacter spp. In Brazilian poultry processing plants. J Infect Dev Ctries. 14 (1): p 109–113. doi:10.3855/jidc.11973.
12. ***Botana L, Fabiana M, Martin-Jimenez T. 2002.*** Farmacologíaia Veterinaria: Fundamentos y aplicaciones terapéuticas. Editorial Panamericana: Madrid.
13. ***Botero J, Cardona M, Álvarez A. 2018.*** Características, métodos de cultivo y resistencia antimicrobiana en *Helicobacter pylori*. Microciencia: investigación, desarrollo e innovación 7: p 56-72
14. ***Bueno J, López N, Rodriguez I, Procura F. 2017.*** Producción de pollos parrilleros en países sudamericanos y planes sanitarios nacionales para el control de *Salmonella* en dichos animales. Avicultura. [Internet], [8 enero 2021]. Disponible en: https://www.engormix.com/avicultura/articulos/produccion-pollos-parrilleros-paises-t40560.htm
15. ***Calvo J, Martínez-Martínez L. 2008.*** Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Elsevier 27(1): p 44-52. doi: 10.1016/j.eimc.2008.11.001
16. ***Casagrande P, Pergola S, Bellucci S, Menchetti L, Miraglia D, Franciosini M. 2018.*** Occurrence and antimicrobial susceptibility of Campylobacter spp. on fresh and refrigerated chicken meat products in Central Italy. Poult Sci. 97(8): p 2895–2901. doi:10.3382/ps/pey147.
17. ***Castro F. 2020.*** Conformación de colecciones de cultivos microbianos. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 428. [Internet], [20 febrero 2023]. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.14001/6945
18. ***[CDC-MINSA] Centro Nacional de Epidemiologia, Prevención y Control de Enfermedades-Ministerio de Salud. 2020.*** Alerta epidemiológica frente a incremento de casos de síndrome de Guillain Barré, en regiones del Perú. Febrero. p 1-4
19. ***[CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2022.*** How antimicrobial resistance happens. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.cdc.gov/drugresistance/about/how-resistance-happens.html
20. ***Choi J, Moon D, Mechesso A, Kang H, Kim S, Song H, Yoon S, Lim S. 2021.*** Antimicrobial resistance profiles and macrolide resistance mechanisms of campylobacter coli isolated from pigs and chickens. Microorganisms. 9(5). doi:10.3390/microorganisms9051077.
21. ***[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.*** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that grow Aerobically. M07 9th ed:13 p
22. ***[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.*** Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. M45. 3rd ed: 22p

23. ***[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020.*** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100 30th ed.
24. ***Collado L. 2020.*** Diagnóstico microbiológico y vigilancia epidemiológica de la campilobacteriosis en Chile: Situación actual y desafíos futuros. 37(3): p 244–251.
25. ***Costa D, Iraola G. 2019.*** Pathogenomics of emerging Campylobacter species. Clin Microbiol Rev. 32(4): p 1–24. doi:10.1128/CMR.00072-18.
26. ***[DIGESA y MINSA] Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria y Ministerio de Salud del Perú. 2019.*** Plan piloto de vigilancia integrada en la resistencia a los antimicrobianos bajo el enfoque "ONE HEALTH". [Internet], [28 diciembre 2021]. Disponible en:http://www.digesa.minsa.gob.pe/compial/archivos/PLAN_PILOTO_VIGILANCIA_INTEGRADA_RAM_PERU.pdf
27. ***[EFSA, ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2013.*** Campylobacter. [Internet], [28 octubre 2022]. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/campylobacter
28. ***[EFSA, ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control.2014.*** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. [Internet], [28 agosto 2020]. Disponible en: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2014.3547
29. ***[EFSA, ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2020.*** The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. [Internet], [15 enero 2021]. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/campylobacter?p=20&page=1.
30. ***El Peruano. 2022.*** Resolución Ministerial N° 830-2022/MINSA. [Internet], [28 diciembre 2022]. Disponible en: https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/aprueban-la-directiva-sanitaria-n-146-minsacdc-2022-dir-resolucion-ministerial-n-830-2022minsa-2115940-1/
31. ***Espinoza F, Roque M. 2015.*** Campylobacter termotolerante en aves de consumo de los mercados de Lima. Conoc Amaz. 6(2): p 107–119.
32. ***Facciolà A, Riso R, Avventuroso E, Visalli G, Delia S, Laganà P. 2017.*** Campylobacter: de la microbiología a la prevención. J Prev Med Hyg . 58 (2): p 79- 92.
33. ***[FDA] Food and Drug Administration. 2014.*** NARMS (The National Antimicrobial Resistance Monitoring System): integrate Report: 2015. [Internet], [30 enero 2021]. Disponible en: https://www.fda.gov/media/101511/download
34. ***[FDA] Food and Drug Administration. 2015.*** Department of Health and Human Services. Veterinary Feed Directive: Federal Register: Rules and Regulations 80 (106)
35. ***[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2004.*** ¿Cuáles son los mecanismos de acción de los antibióticos? [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.fao.org/3/y5468s/y5468s05.htm#TopOfPage

36. ***[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2023.*** Producciones avícolas. [Internet], [11 febrero 2023]. Disponible en: https://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/
37. ***[FENAVI] Federacion Nacional de Avicultores de Colombia. 2020.*** Consumo per cápita mundial de pollo. FENAVI: Federación Nacional de Avicultores de Colombia Fondo Nacional avícola. [Internet], [30 enero 2021]. Disponible en: https://fenavi.org/estadisticas/consumo-per-capita-mundo-pollo/
38. ***Fernández H. 2011.*** Campylobacter and campylobacteriosis: A view from South America. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 28(1): p 121–127. doi:10.1590/S1726-46342011000100019.
39. ***Ferro I, Benetti T, Oliveira T, Abrahão W, Farah S, Luciano F, Macedo R. 2015.*** Evaluation of antimicrobial resistance of Campylobacter spp. isolated from broiler carcasses. Br Poult Sci. 56 (1): p66–71. doi:10.1080/00071668.2014.981796.
40. ***Filippitzi M, Sarrazin S, Imberechts H, Smet A, Dewulf J. 2016.*** The risk of cross-contamination due to the use of antimicrobial medicated feed throughout the trail of feed from the feed mill to the farm. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 33(4): p 644-655. doi: 10.1080/19440049.2016.1160442.
41. ***[FIRA] Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura.2019.*** Panorama agroalimentario: carne de pollo en el 2019. 2-8 p [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/09/29173801/Panorama-Agroalimentario-Carne-de-pollo-2019.pdf
42. ***Florida N. 2019.*** Plumas: implicancia ambiental y uso en la industria agropecuaria. Rev. Investig. Altoandin. 21 (3): p 225-237
43. ***[FSIS, USDA] Food Safety and Inspection Service*****, United States Department of Agriculture. 2013.** Campylobacter. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.fsis.usda.gov/food-safety/foodborne-illness-and disease/pathogens/campylobacter/campylobacter-en-espanol#:~:text=A%3A%20La%20infecci%C3%B3n%20causada%20por,las%20heces%20de%20animales%20infectados
44. ***Garcia M, Uruburu F. 2010.*** La conservación de cepas microbianas. Actualidad 30: p 12-16
45. ***García-Sánchez L, Melero B, Rovira J. 2018.*** Campylobacter in the Food Chain. Adv Food Nutr Res. 86 : p 215–252. doi:10.1016/bs.afnr.2018.04.005.
46. ***Gastelo R. 2018.*** Mecanismos de resistencia bacteriana. 57(2): p 82–86.
47. ***Gatica M, Rojas H. 2018***. Gestión sanitaria y resistencia a los antimicrobianos en animales de producción. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 35(1):118p. doi:10.17843/rpmesp.2018.351.3571.
48. ***Gavilán R, Flores-León D, Hurtado C, Velapatiño G, Quino W, Vences-Rosales F, Zamadio M. 2019.*** PCR multiplex en tiempo real para la detección de patógenos asociados síndrome

diarreico aguda. Resúmenes del XIII Congreso Científico Internacional del Instituto Nacional de Salud. Revista peruana de medicina experimental y salud publica 36(1): p 10-11

49. ***Ghaffoori Kanaan M, Obayes Al-Isawi A, Mohamme F. 2022.*** Antimicrobial Resistance and Antibiogram of Thermotolerant Campylobacter Recovered from Poultry Meat in Baghdad Markets, Iraq. Arch of Razi Inst 77 (1): p 249–55. doi: 10.22092/ARI.2021.356362.1828.
50. ***Gimenez G, Weiler N, Nuñez L, Orrego M, Cardozo L, Cantero G. 2022.*** Typification and Evaluation of the Antimicrobial Sensitivity of *Campylobacter Jejuni* and *Campylobacter Coli* Strains from Chickens from Bajo Chaco - Paraguay, 2018 - 2020. Compendio de Ciencias Veterinarias 12 (1): p 14–19. doi:10.18004/compend.cienc.vet.2022.12.01.14.
51. ***Godschalk P, Heikema A, Gilbert M, Komagamine T, Wim Ang C, Glerum J. 2004.*** The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in anti-ganglioside antibody induction in Guillain-Barré syndrome. J Clin Invest. 114: p 1659-1665.
52. ***González-Hein G, Cordero N, García P, Figueroa G. 2013.*** Análisis molecular de la resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en aislados de *Campylobacter jejuni* de humanos, bovinos y carne de ave. Rev Chil Infect. 30(2): p 135-139. doi:10.4067/s0716-10182013000200003.
53. ***Goyal D, Watkins L, Montgomery M, Jones S, Caidi H, Friedman C. 2021.*** Antimicrobial susceptibility testing and successful treatment of hospitalised patients with extensively drug-resistant Campylobacter jejuni infections linked to a pet store puppy outbreak. J Glob Antimicrob Resist. 26: p 84–90. doi:10.1016/j.jgar.2021.04.029.
54. ***Guirin G, Brusa V, Adriani C, Leotta G. 2019.*** Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from broilers at conventional and kosher abattoirs and retail stores. Rev Argent Microbiol. 52(3): 4 p. doi: 10.1016/j.ram.2019.07.002
55. ***Gunasekaran K, Vellapandi S, Chitra A, Kumaragurubaran K. 2022.*** Virulence, MLST Analysis, and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter coli* Isolated from Broiler Chickens in Tamil Nadu, India. Irani J Vet Research 23(2): p128–36. doi: 10.22099/IJVR.2022.42199.6135.
56. ***Hayama Y, Yamamoto T, Kasuga F, Tsutsui T. 2011.*** Modelo de simulación para la contaminación cruzada de Campylobacter durante el procesamiento de aves de corral en mataderos. Zoonosis Salud Pública. (58): p 399–406.
57. ***Hull D, Harrell E, van Vliet A, Correa M, Thakur S. 2021.*** Antimicrobial resistance and interspecies gene transfer in Campylobacter coli and Campylobacter jejuni isolated from food animals, poultry processing, and retail meat in North Carolina, 2018–2019. PLoS One. 16: p 1–23. doi:10.1371/journal.pone.0246571.
58. ***[INS] Instituto Nacional de Salud. 2019.*** Vigilancia, prevención y control de la resistencia antimicrobiana en Perú. Comisión multisectorial para enfrentar la resistencia antimicrobiana. [Internet], [11 febrero 2023]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/533451/Acciones_sobre_resistencia_antimicrobiana.pdf

59. ***[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2021.*** Acceso a los servicio básicos en el Perú 2021. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1863/libro.pdfI
60. ***[ISO] International Organization for Standardization. 2017.*** Campylobacter ISO 10272-1:2017 [Internet], [10 enero 2023]. Disponible en: http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/Campylobacter%20ISO%2010272-1%202017.pdf
61. ***Iulietto M, Evers E. 2020.*** Modelling and magnitude estimation of cross-contamination in the kitchen for quantitative microbiological risk assessment (QMRA). EFSA Journal, 18(1). doi: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.
62. ***Jiménez M, Galas M, Corso A, Hormazábal J, Duarte C, Salgado N, Pardo R, Melano R. 2019.*** Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Rev Panam Salud Pública: p1–8. doi:10.26633/rpsp.2019.65.
63. ***Kaakoush N, Castaño-Rodríguez N, Mitchell H, Man S. 2015.*** Global epidemiology of campylobacter infection. Clin Microbiol Rev. 28(3): p 687–720. doi:10.1128/CMR.00006-15.
64. ***Kassem I, Sanad Y, Gangaiah D, Lilburn M, Lejeune J, Rajashekara G. 2010.*** Use of bioluminescence imaging to monitor Campylobacter survival in chicken litter. p1988–1997. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04828.x.
65. ***Kassim A, Omuse G, Premji Z, Revathi G. 2016.*** Comparison of Clinical Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing guidelines for the interpretation of antibiotic susceptibility at a University teaching hospital in Nairobi, Kenya: A cross-sectional stud. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 15(1): p1–7. doi:10.1186/s12941-016-0135-3.
66. ***Khan Z, Siddiqui M, Park S. 2019.*** Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. Diagnostics, 9(49): 17p doi:10.3390/diagnostics9020049
67. ***Kouglenou S, Agbankpe A, Dougnon V, Djeuda A, Deguenon E, Hidjo M, Baba-Moussa L, Bankole H, Bankole H. 2020.*** Prevalence and susceptibility to antibiotics from Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from chicken meat in southern Benin, West Africa. BMC Res Notes. 13(1): p1–6. doi:10.1186/s13104-020-05150-x.
68. ***Kovanen S, Kivistö R, Llarena A, Zhang J, Kärkkäinen U, Tuuminen T, Uksila J, Hakkinen M, Rossi M, Hänninen M. 2016.*** Tracing isolates from domestic human C*ampylobacter jejuni* infections to chicken slaughter batches and swimming water using whole-genome multilocus sequence typing. J Food Microbiol. 226: p 53-60. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.009.
69. ***Kuana S, Rodrigues L, Borsoi A, Tadeu C, Salle P, Alegre P, Fundo U, Fundo P. 2008.*** Antimicrobial Resistance in Campylobacter spp Isolated from Broiler Flocks. Brazilian J Microbiol. 39: p738–740.

70. ***Kuhn K, Nygård K, Guzman-Herrador B, Sunde L, Rimhanen-Finne R,*** **Trönnberg** ***L,*** **Jepsen** ***M,*** **Ruuhela** ***R,*** **Wong** ***W,*** **Ethelberg** ***S. 2020.*** Campylobacter infections expected to increase due to climate change in Northern Europe. *Sci Rep.* 10: p 1-9 doi: 10.1038/s41598-020-70593-y

71. ***Lai H, Tang Y, Ren F, Li Z, Li F, Cui C, Jiao X, Huang J. 2021.*** An investigation into the critical factors influencing the spread of campylobacter during chicken handling in commercial kitchens in China. Microorganisms. 9(6): 1164 p. doi:10.3390/MICROORGANISMS9061164/S1.

72. ***Lázaro C, Conte-Junior C, Vilca M, Lucas J, Ramos D, Manchego A, Chiok K, Franco R. 2012.*** Molecular identification of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from small-scale poultry slaughterhouse in Lima, Peru. Int J Poult Sci. 11(11): p 677–682. doi:10.3923/ijps.2012.677.682.

73. ***Leão H. 2018.*** Campylobacter spp. Em matrizes cárneas consumidas no Brasil.

74. ***Lee J, Jeong J, Lee H, Ha J, Kim S, Choi Y, Oh H, Seo K, Yoon Y, Lee S. 2017.*** Antibiotic susceptibility, genetic diversity, and the presence of toxin producing genes in campylobacter isolates from poultry. Int J Environ Res Public Health. 14(11). doi:10.3390/ijerph14111400.

75. ***Levin R. 2007. C***ampylobacter jejuni: revisión de sus características, patogenicidad, ecología, distribución, caracterización de subespecies y métodos moleculares de detección. Biotec alimen (21): p 271–347.

76. ***Lim S, Moon D, Chae M, Kim H, Nam H, Kim S, Jang G, Lee K, Jung S, Lee H. 2016.*** Macrolide resistance mechanisms and virulence factors in erythromycin-resistant campylobacter species isolated from chicken and swine feces and carcasses. J Vet Med Sci. 78(12): p1791–1795. doi:10.1292/jvms.16-0307.

77. ***Linn K, Furuta M, Nakayama M, Masuda Y, Honjoh K, Miyamoto T. 2021.*** Characterization and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from chicken and pork. Int J Food Microbiol. 360. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109440.

78. ***Lozano T. 2016.*** Presencia de *Campylobacter* termotolerante en carne cruda de pollos que se expenden en mercados. Tesis de Biólogo. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

79. ***Luber P, Bartelt E, Genschow E, Wagner J, Hahn H. 2003.*** Comparison of broth microdilution, E test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and

80. *Campylobacter coli.* J Clin Microbiol. 41(3): p 1062–1068. doi:10.1128/JCM.41.3.1062-1068.2003.

81. ***Lucas L, Vilca L, Ramos D. 2013.*** Presencia de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. Rev Investig Vet del Perú. 24(3): p 346–352. doi:10.15381/rivep.v24i3.2583.

82. ***Madigan M, Martinko J, Dunlap P, Clark D. 2015.*** Broch Biología de Los microorganismos 12ª ed. Madrid: Pearson educación.

83. ***Madrid A, Martínez J, Núñez M, Ramos J. 2012.*** Síndrome de Miller-Fisher asociado a neuropatía axonal motora aguda: correlación clínico-inmunológica. Neurologia. 27(3): p 179-188
84. ***Martinez-Martinez L. 2003.*** El futuro de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. Enferm Infecc Microbiol Clin, 21(2): p 64-71
85. ***Marotta F, Garofolo G, Di Donato G, Aprea G, Platone I, Cianciavicchia S, Alessiani A, Di Giannatale E. 2015.*** Population Diversity of Campylobacter jejuni in Poultry and Its Dynamic of Contamination in Chicken Meat. Biomed Res Int. doi:10.1155/2015/859845.
86. ***Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. 2014.*** Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin Microbiol Infect. 20(4). doi:10.1111/1469-0691.12373.
87. ***Mavri A, Smole S. 2013.*** Development of antimicrobial resistance in Campylobacter jejuni and *Campylobacter coli* adapted to biocides. Int J Food Microbiol. 160(3): p 304-12. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.006.
88. ***McCormick B, Lang D. 2016.*** Diarrheal disease and enteric infections in LMIC communities: how big is the problem? *Trop Dis Travel Med Vaccines* 2(11): p 1-7.doi:10.1186/s40794-016-0028-7
89. ***Melo R, Grazziotin A, Júnior E, Prado R, Mendonça E, Monteiro G, Peres P, Rossi D. 2019***. Evolution of *Campylobacter jejuni* of poultry origin in Brazil. Food Microbiol. 82: p 489–496. doi:10.1016/j.fm.2019.03.009.
90. ***Mehdi Y, Létourneau M, Gaucher M, Chorfi Y, Suresh G, Rouissi T, Kaur S, Côté C, Avalos A, Godbout S. 2018.*** Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. Animal Nutrition 4 (2): p 170-178.
91. ***Mezarina H, Paredes M, Rojas A. 2019.*** Evolución de la resistencia antimicrobiana de *Campylobacter* spp. y *Shigella* spp. En el hospital de emergencias pediátricas Lima Perú 2007-2018. Resúmenes del XIII Congreso Científico Internacional del Instituto Nacional de Salud. Revista peruana de medicina experimental y salud publica 36(1): p 10-11
92. ***[MIDAGRI] Ministerio de desarrollo agrario y riego, Dirección General De Políticas Agrarias. 2020.*** Panorama y perspectivas de la producción de pollo en el Perú Ministerio de Agricultura y Riego y Dirección General de Políticas Agrarias: 21 p
93. ***[MIDAGRI] Ministerio de desarrollo agrario y riego. 2023.*** Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícolas. Perú: Boletín estadístico: Diciembre: p 7-19.
94. ***[MINSA] Ministerio de Salud .2020***. Boletín epidemiológico del Perú. Situación actual del Síndrome de Guillain Barré en el Perú. 29: p 11-12

95. ***[MINSA] Ministerio de Salud. 2021.*** Resolución Ministerial N.° 675-2021-MINSA. [Internet], [20 enero 2021]. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/1942432-675-2021-minsa
96. ***Morejon M, Slaup R. 2015.*** Actualización en macrólidos. [Internet], [05 julio 2023]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a2-actualizacion_en_macrolidos.pdf
97. ***Mori M, Kuwabara S, Fukutake T, Yuki N, Hattori T. 2001.*** Clinical features and prognosis of Miller Fisher syndrome. Neurology. 56(8): p 1104-1106
98. ***Moya-Salazar J, Terán-Vásquez A, Salazar-Hernández R. 2018.*** Alta resistencia antimicrobiana a fluoroquinolonas por Campylobacter en pacientes pediátricos de un hospital peruano. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 35 (1): 156p. doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.360
99. ***Munayco C, Gavilan R, Ramirez G, Loayza M, Miraval M, Whitehouse E, Gharpure R, Soares J, Soplopuco H, Sejvar J. 2020.*** Large Outbreak of GuillainBarré Syndrome, Peru, 2019. Emerging Infectious Diseases 26(11): p 2778-2780. doi: 10.3201/eid2611.200127
100. ***Neu H, Gootz T. 1996.*** Antimicrobial Chemotherapy. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. Cap 11. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7986/
101. ***Ogbor O, Ajayi A, Zautner A, Smith S. 2019.*** Antibiotic susceptibility profiles of Campylobacter coli isolated from poultry farms in Lagos Nigeria – A pilot study . Eur J Microbiol Immunol. 9(2): p 32–34. doi:10.1556/1886.2019.00007.
102. ***[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2018.*** Infección por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Manual terrestre de la OIE. [Internet], [30 enero 2021]. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.09.03_Campilobacter_jejuni.pdf
103. ***[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2017.*** La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Resistencia a los antimicrobianos. [Internet], [20 enero 2022]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed
104. ***[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2020.*** Resistencia a los antimicrobianos Resistencia 2020. Ginebra [Internet], [20 enero 2022]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos
105. ***[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2023.*** Campylobacter. [Internet], [20 enero 2021]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter
106. ***Paravisi M, Laviniki V, Bassani J, Kunert Filho H, Carvalho D, Wilsmann D, Borges K, Furian T, Salle C, Moraes H, Nascimento V. 2020.*** Antimicrobial Resistance in Campylobacter

jejuni Isolated from Brazilian Poultry Slaughterhouses. Brazilian J Poult Sci. 22(2): p1–10. doi:10.1590/1806-9061-2020-1262.

107. ***Perez-Arnedo I, Gonzalez-Fandos E. 2019.*** Prevalence of *Campylobacter* spp. in Poultry in Three Spanish Farms, A Slaughterhouse and A Further Processing Plant. Foods. 8(3):111p. doi:10.3390/foods8030111.
108. ***Pergola S, Franciosini MP, Comitini F, Ciani M, De Luca S, Bellucci S, Menchetti L, Casagrande P. 2017.*** Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolated from broiler chicken in farms and at time of slaughter in central Italy. J Appl Microbiol. 122(5): p1348–1356. doi:10.1111/jam.13419.
109. ***Persson S, Olsen K. 2005.*** Multiplex PCR for identification of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni from pure cultures and directly on stool samples. J Med Microbiol. 54(11): p 1043–1047. doi:10.1099/jmm.0.46203-0.
110. ***Pham N, Thongprachum A, Tran D, Nishimura S, Shimizu-Onda Y, Trinh Q, Khamrin P, Ukarapol N, Kongsricharoern T, Komine-Aizawa S, Okitsu S, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. 2016.*** Antibiotic resistance of Campylobacter jejuni and C. coli isolated from children with diarrhea in Thailand and Japan. Jpn J Infect Dis. 69(1): p77–79. doi:10.7883/yoken.JJID.2014.582.
111. ***Pitcovski J, Goyal S. 2019.*** Campylobacteriosis. Diseases of Poultry. 14ed. 754 p.
112. ***Platts-Mills J, Kosek M. 2014.*** Actualización sobre la carga de Campylobacter en los países en desarrollo. Curr Opin Infect Dis. 27 (5): p 444–450.
113. ***Pollett S, Rocha C, Zerpa R, Patiño L, Valencia A, Camiña M, Guevara J, Lopez M, Chuquiray N, Salazar-Lindo E, Calampa C, Casapia M, Meza R, Bernal M, Tilley D, Gregory M, Maves R, Hall E, Jones F, Arriola S, Rosenbaum M, Perez J, Kasper M. 2012.*** *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: a ten-year observational study. BMC Infect Dis. 12: p 1–7. doi:10.1186/1471-2334-12-193.
114. ***PubMLST. 2021.*** Search or browse database. [Internet], [30 agosto 2023]. Disponible en: https://pubmlst.org/organisms/campylobacter-jejunicoli/primers
115. ***Quino W, Caro-Castro J, Hurtado V, Flores-León D, Gonzalez-Escalona N, Gavilan R. 2022.*** Genomic Analysis and Antimicrobial Resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in Peru. Front. Microbiol. 12:802404. doi: 10.3389/fmicb.2021.802404
116. ***Ramos A, Leonhard S, Halstead S, Cuba M, Castañeda C, Dioses J, Tipismana M, Abanto J, Llanos A, Gourlay D, Grogl M, Ramos M, Rojas J, Meza R, Puiu D, Sherman R, Salzberg S, Simner P, Willison H, Jacobs B, Cornblath D, Umeres H, Pardo C. 2021.*** Guillain-Barré Syndrome Outbreak in Peru 2019 Associated with *Campylobacter jejuni* Infection. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 8(2): 952p. doi: 10.1212/NXI.0000000000000952
117. ***Realpe-Delgado M, Muñoz-Delgado Á, Donado-Godoy P, Rey-Ramírez L, Díaz-Guevara P, Arévalo-Mayorga S. 2016.*** Epidemiología de *Salmonella* spp., *Listeria monocitogenes* y

Campylobacter spp., en la cadena productiva avícola. J Food Prot. 29(4): p 397–406. doi:10.17533/udea.iatreia.v29n4a01.397.

118. ***[RENACE] Centro Nacional de Epidemiologia, Prevención y Control de Enfermedades, de la dirección Nacional de Epidemiologia. 2022.*** Boletín Epidemiológico del Perú VOL 31-SEM 40. [Internet], [28 diciembre 2022]. Disponible en : https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202240_17_091727.pdf
119. ***[RENACE] Centro Nacional de Epidemiologia, Prevención y Control de Enfermedades, de la dirección Nacional de Epidemiologia. 2022.*** Boletín Epidemiológico del Perú VOL 31-SEM 44. [Internet], [10 enero 2023]. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202244_23_111627.pdf
120. ***Reygaert W. 2018.*** An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. 4: p482–501. doi:10.3934/microbiol.2018.3.482.
121. ***Risteen R, Hazen T, Michalski J, Poly F, Tennant S, Rasko D. 2020.*** Examination of 189 Campylobacter Species Isolates from the Global Enteric Multicenter Study . Microbiol Resour Announc. 9(30): p1–5. doi:10.1128/mra.00646-20.
122. ***Robyn J, Rasschaert G, Pasmans F, Heyndrickx M. 2015.*** Thermotolerant *Campylobacter* during Broiler Rearing : Risk Factors and Intervention. 14. doi:10.1111/1541-4337.12124.
123. ***Rodrigues C, Melo R, Fonseca B, Martins P, Ferreira F, Araújo M, Rossi D. 2015.*** Occurrence and characterization of Campylobacter spp. isolates in dogs, cats and children. Pesqui Vet Bras. 35(4): p 365–370. doi:10.1590/S0100-736X2015000400009.
124. ***Royden A, Wedley A, Merga J, Rushton S, Hald B, Humphrey T, Williams N. 2016.*** A role for flies (Diptera) in the transmission of Campylobacter to broilers? Epidemiol Infect. 144(15):3326–3334. doi:10.1017/S0950268816001539.
125. ***Sadeghi A, Ganji L, Fani F, Pouladfar G, Eslami P, Doregiraee F, Owlia P, Alebouyeh M. 2022.*** Prevalence, Species Diversity, and Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter Strains in Patients with Diarrhea and Poultry Meat Samples: One-Year Prospective Study. Iranian J of Microbi 14 (3): p 362–72. doi:10.18502/ijm.v14i3.9775.
126. ***Samaniego–Lozano C, Juárez T, Espinoza I, Vila J, Guillén-Pinto D. 2017.*** Síndrome de Miller Fisher en un niño de 12 años. Rev Neuropsiquiatr. 80(4): 273p. doi:10.20453/rnp.v80i4.3242.
127. ***Schiaffino F, Colston J, Paredes-Olortegui M, François R, Pisanic N, Burga R, Peñataro-Yori P, Kosek M. 2019.*** Antibiotic resistance of *Campylobacter* species in a pediatric cohort study. Antimicrob Agents Chemother. 63(2):1–10. doi:10.1128/AAC.01911-18.
128. ***Santos-Ferreira N, Ferreira V, Teixeira P. 2022.*** Occurrence and Multidrug Resistance of Campylobacter in Chicken Meat from Different Production Systems. *Foods* 11 (13). doi: 10.3390/foods11131827.
129. ***Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin A. 2007.*** Antimicrobial susceptibility testing protocols. Crc Press 1ed.

130. ***Schreyer M, Olivero C, Rossler E, Soto L, Frizzo L, Zimmermann J, Signorini M, Virginia Z. 2022.*** Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* identified in a slaughterhouse in Argentina. Curr Res Food Sci. 5: p 590–597. doi:10.1016/J.CRFS.2022.03.005.
131. ***Shane A, Mody R, Crump J, Tarr P, Steiner T, Kotloff K, Langley J, Wanke C, Warren C, Cheng A, Cantey J, Pickering L. 2017.*** Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. Clin Infect Dis. 65(12): p 45-80. doi: 10.1093/cid/cix669.
132. ***Shange N, Gouws P, Hoffman L. 2019.*** *Campylobacter* and *Arcobacter* species in food-producing animals: prevalence at primary production and during slaughter. World J Microbiol Biotechnol. 35(9): p1-16. doi:10.1007/s11274-019-2722-x.
133. ***Schumacher A, Vranken T, Malhotra A, Arts J, Habibovic P. 2018.*** In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 37(2): p 187–208. doi:10.1007/s10096-017-3089-2.
134. ***Sibanda N, McKenna A, Richmond A, Ricke S, Callaway T, Stratakos A, Gundogdu O, Corcionivoschi N. 2018.*** A review of the effect of management practices on campylobacter prevalence in poultry farms. Front Microbiol. 9: p1–9. doi:10.3389/fmicb.2018.02002.
135. ***Sierra-Arguello Y, Furian T, Perdoncini G, Moraes H, Salle C, Rodrigues L, Dos Santos L, Pereira M, Do Nascimento V. 2018.*** Fluoroquinolone resistance in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from poultry and human samples assessed by PCR-restriction fragment length polymorphism assay. PLoS One. 13(7):1–9. doi:10.1371/journal.pone.0199974.
136. ***Simonin H, Bergaoui I, Perrier-Cornet J, Gervais P. 2015.*** Cryopreservation of *Escherichia coli* K12TG1: Protection from the damaging effects of supercooling by freezing. Cryobiology 70(2): p 115–121. doi:10.1016/j.cryobiol.2014.12.006
137. ***Skarp C, Hänninen M, Rautelin H. 2015.*** Campylobacteriosis: The role of poultry meat. Clin Microbiol Infect. 2016 (22): p 103–109.
138. ***Smith B, Meadows S, Meyers R, Parmley E, Fazil A. 2019.*** Seasonality and zoonotic foodborne pathogens in Canada: Relationships between climate and *Campylobacter, E. coli* and *Salmonella* in meat products. Epidemiol Infect. 147. doi:10.1017/S0950268819000797.
139. ***Suman Kumar M, Ramees T, Dhanze H, Gupta S, Dubal Z, Kumar A. 2023.*** Occurrence and Antimicrobial Resistance of Campylobacter Isolates from Broiler Chicken and Slaughterhouse Environment in India. Animal Biotechnology 34(2): p 199–207. doi: 10.1080/10495398.2021.1953514.
140. ***Syal K, Mo M, Yu H, Iriya R, Jing W, Guodong S, Wang S, Grys TE, Haydel SE, Tao N. 2017.*** Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. Theranostics. 7(7): p1795–1805. doi:10.7150/thno.19217.
141. ***Szczepanska B, Andrzejewska M, Spica D, Klawe J. 2017.*** Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from children and

environmental sources in urban and suburban areas. BMC Microbiol. 17(1):1–9. doi:10.1186/s12866-017-0991-9.

142. ***Tedersoo T, Mati R, Mihkel M, Liidia H, Veljo K, Marina I, Marikki H, Kadrin M. 2022.*** Antibiotic Resistance in *Campylobacter* Spp. Isolated from Broiler Chicken Meat and Human Patients in Estonia." *Microorganisms* 10 (5): p 1–10. doi: 10.3390/microorganisms10051067.
143. ***Toledo Z, Simaluiza R, Fernández H. 2018.*** Occurrence and antimicrobial resistance of campylobacter Jejuni and campylobacter coli isolated from domestic animals from southern Ecuador. Cienc Rural. 48(11): p 3–7. doi:10.1590/0103-8478cr20180003.
144. ***Torres D. 2023.*** Detección de resistencia antimicrobiana fenotípica a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas en cepas de Campylobacter spp. aisladas de carne de pollo envasada, refrigerada y comercializada en cuatro distritos de Lima Sur. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 23p
145. ***Trajkovska-Dokic E, Mihajlov K, Mirchevska G, Kostovski M, Blazevska A, Stojkovska S. 2019.*** Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter isolates in the Capital of North Macedonia. Prilozi. 40(2): p 73–80. doi:10.2478/prilozi-2019-0017.
146. ***Tresierra-Ayala Á, Espinoza-Campos F, Bendayán-Acosta Me, Donayre-P. M, Fernández H. 2006.*** La fauna silvestre de la amazonía peruana, un potencial reservorio de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* y *Campylobacter coli*. Folia Amaz. 15(1–2):117 p. doi:10.24841/fa.v15i1-2.229.
147. ***Treviño N, Molina N. 2022.*** Antibióticos: mecanismo de acción y resistencia bacteriana. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/136280/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
148. ***[USDA] United States Department of Agriculture* 2023.** Livestock and poultry world markets and trade. [Internet], [10 febrero 2023]. Disponible en: https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf
149. ***Van Boeckel T, Gandra S, Ashok A, Caudron Q, Grenfell B, Levin S, Laxminarayan R. 2014.*** Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. Lancet Infect Dis.14(8): p742-750. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70780-7.
150. ***Van Looveren M, Daube G, De Zutter L, Dumont J, Lammens C, Wijdooghe M, Vandamme P, Jouret M, Cornelis M, Goossens H. 2001.*** Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium, *J. of Antimi Chemotherapy*, 48, (2): p 235–240. doi: 10.1093/jac/48.2.235
151. ***Vinueza-Burgos C, Wautier M, Martiny D, Cisneros M, Van Damme I, De Zutter L. 2017.*** Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of Campylobacter coli and *Campylobacter jejuni* in Ecuadorian broilers at slaughter age. Poult Sci. 96(7): p2366–2374. doi:10.3382/ps/pew487.

152. ***Wang Y, Dong Y, Deng F, Liu D, Yao H, Zhang Q, Shen J, Liu Z, Gao Y, Wu C, Shen Z. 2016.*** Species shift and multidrug resistance of Campylobacter from chicken and swine, China, 2008-14. J Antimicrob Chemother. 71(3): p666–669. doi:10.1093/jac/dkv382.

153. ***Wieczorek K, Osek J. 2015.*** A five-year study on prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter from poultry carcasses in Poland. Food Microbiol. 49: p 161–165. doi:10.1016/j.fm.2015.02.006.

154. ***Wieczorek K, Wolkowicz T, Osek J. 2018.*** Antimicrobial resistance and virulence-associated traits of Campylobacter jejuni isolated from poultry food chain and humans with diarrhea. Front Microbiol. 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01508.

155. ***You Y, Silbergeld E. 2014.*** Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. Front Microbiol. 10(5): 284 p. doi: 10.3389/fmicb.2014.00284.

156. ***Zaman S, Hussain M, Nye R, Mehta V, Mamun K, Hossain N. 2017.*** A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. Cureus. 9(6): 1403 p. doi: 10.7759/cureus.1403.

157. ***Zhang P, Zhang X, Liu Y, Cui Q, Qin X, Niu Y, Wang C, Wang T, Chen Q, Ding S, Ma X, Shen Z. 2022.*** Genomic Insights into the Increased Occurrence of Campylobacteriosis Caused by Antimicrobial-Resistant *Campylobacter coli.* mBio. 13(6): p 1-13. doi: 10.1128/mbio.02835-22.

158. ***Zhao S, Young S, Tong E, Abbott J, Womack N, Friedman S, McDermott P. 2010.*** Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from retail meat in the united states between 2002 and 2007. Appl Environ Microbiol. 76(24): p 7949–7956. doi:10.1128/AEM.01297-10.

IX. APÉNDICE

Anexo 1. Obtención de muestras en base a 2 trabajos de investigación previos de Torres (2023) y Anampa (2020).

Las muestras tomadas en el experimento corresponden a cepas criopreservadas de *Campylobacter coli* resultados de 2 tesis de pregrado, a continuación, se detallan los criterios utilizados en ambas investigaciones para la selección de número de muestras, ubicación de zonas de muestreo, tipo de muestras y metodología de aislamiento

El número de muestras de carcasas de pollos frescos provenientes de supermercados (Torres, 2023) fue de 120, proceden de los distritos Santiago de Surco, San Borja, Surquillo, La Molina; las muestras de mercados (Anampa, 2020) fueron 120 y provienen de los distritos de Independencia, San Martin de Porres y Santa Anita. Ambos estudios obtuvieron su tamaño muestral según las variables cualitativas en poblaciones finitas teniendo en cuenta el número de aves vendidas brindado por el MIDAGRI.

Las muestras fueron trasladadas en cajas isotérmicas con medios de congelación a una temperatura de 4 a 8°C hasta llegar al Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria de la FMV-UNMSM. Seguidamente se obtuvo la muestras representativa de peso de 10 gr, la cual se colocó en 90 ml de caldo Preston al 5% de sangre en bolsas estériles, fueron llevadas a incubación en jarra de anaerobiosis con packs microaerófilos, la incubación de hizo en 24 horas a 42°C. Después de este tiempo se homogenizó el contenido de la bolsa y se procedió a tomar 100 µL para sembrarlo por agotamiento en agar mCCD por 48 horas a 42°C a las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Posteriormente, se hizo el cultivo en agares no selectivos como el agar sangre, llegando finalmente a la identificación del agente a través de pruebas morfológicas y bioquímicas. Siendo en total 56 muestras positivas para *Campylobacter* spp. identificándose 52 muestras de *C. coli* y en mercados se obtuvo 117 muestras siendo 100% *C. coli.* De las cuales, posteriormente se reactivó para la presente investigación 106 cepas, 52 provenientes de supermercados y 54 de mercados, teniendo en cuenta que eran cepas disponibles en el cepario de Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria de FMV-UNMSM.

Anexo 2. Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de Kirby Bauer según criterio de CLSI (2015). Donde a: ciprofloxacina, b: tetraciclina, c: azitromicina, d: eritromicina. 0=sensible; 1=resistente; 2=intermedio; _=no evaluado.

#	Cepa	Antimicrobiano				#	Cepa	Antimicrobiano			
		a	b	c	d			a	b	c	d
1	sf10	1	1	2	1	50	R39	1	1	0	1
2	sf11	1	1	1	1	51	F8	1	1	2	1
3	sf12	1	1	1	1	52	F10	1	1	1	1
4	sf14	2	1	2	1	53	GST 18	1	1	1	1
5	sf15	1	1	1	1	54	GI 5	1	1	1	1
6	sf17	1	1	2	1	55	GST 20	1	1	1	1
7	sf18	1	1	2	1	56	GI43	1	1	1	1
8	sf19	1	1	2	1	57	GI 7	2	1	2	1
9	sf21	1	1	1	1	58	GC 16	1	1	1	1
10	sf22	1	1	2	1	59	GI 42	1	1	1	1
11	sf23	1	1	0	1	60	GI 3	1	1	2	1
12	sf24	1	1	2	1	61	GC 14	1	1	2	1
13	sf25	1	1	1	1	62	GST 3	1	1	1	1
14	sf26	1	1	1	1	63	IG 4	1	1	1	1
15	sf27	0	1	2	1	64	GI 31	1	1	1	1
16	sf29	1	1	2	1	65	GC 17	1	1	1	1
17	sf30	1	1	1	1	66	GC 2	1	1	1	1
18	sf31	1	1	0	0	67	GI 50	1	1	1	1
19	sf32	1	1	2	1	68	GI 1	1	1	2	1
20	sf34	1	1	2	2	69	GI 14	1	1	1	1
21	sf35	1	1	1	1	70	GI 15	1	1	2	1
22	sf36	1	1	2	1	71	GI 25	1	1	1	1
23	sf37	0	1	1	1	72	GI 29	0	1	1	1
24	sf38	1	1	1	1	73	GST 17	1	1	1	1
25	sf41	1	1	2	1	74	GST 13	1	1	2	1
26	sf45	1	1	1	1	75	GST 19	1	1	1	1
27	R2	1	1	1	1	76	GI 6	1	1	0	1
28	R3	1	1	2	1	77	GI 8	1	1	2	1
29	R5	1	1	2	1	78	GI 17	1	1	0	1
30	R6	1	1	0	1	79	GI 22	1	1	1	1
31	R9	1	1	1	1	80	GI 4	1	1	1	1
32	R11	1	1	0	1	81	I 56	1	1	1	1
33	R12	1	1	0	1	82	GC 18	1	1	1	1
34	R17	1	1	1	1	83	GI 32	1	1	1	1
35	R20	1	1	1	1	84	GI 34	1	1	1	1
36	R23	1	1	0	1	85	GI 37	1	1	1	1
37	R24	1	1	2	1	86	GI 47	1	1	1	1
38	R25	1	1	2	1	87	IG 5	1	1	1	1
39	R26	1	1	1	1	88	I 51	1	1	1	1
40	R27	1	1	1	1	89	I 61	1	1	1	1
41	R28	1	1	1	1	90	GST 6	1	1	1	1
42	R30	1	1	1	1	91	GI 23	1	1	1	1
43	R31	1	1	2	1	92	GI 24	1	1	1	1
44	R32	1	1	0	1	93	GI36	1	1	1	1
45	R33	1	1	1	1	94	GI41	1	1	1	1
46	R34	1	1	2	1	95	GST 1	1	1	1	1
47	R35	1	1	2	1	96	GST 10	1	1	1	1
48	R37	1	1	0	1	97	GI 27	1	1	1	1
49	R38	1	1	0	1						

Anexo 3. Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de E-test según criterio de CLSI (2015). Donde a: ciprofloxacina, b: tetraciclina, c: azitromicina, d: eritromicina. 0=sensible; 1=resistente; 2=intermedio; _=no evaluado.

#	Cepa	Antimicrobiano				#	Cepa	Antimicrobiano			
		a	b	c	d			a	b	c	d
1	sf10	1	1	1	_	50	R39	1	1	2	_
2	sf11	2	1	2	_	51	F8	1	1	2	_
3	sf12	0	1	1	_	52	F10	1	1	1	_
4	sf14	0	1	1	_	53	GST 18	2	1	1	_
5	sf15	1	1	1	_	54	GI 5	1	1	1	_
6	sf17	1	1	1	_	55	GST 20	1	1	2	_
7	sf18	1	1	2	_	56	GI43	1	1	1	_
8	sf19	1	1	1	_	57	GI 7	0	1	0	_
9	sf21	1	1	1	_	58	GC 16	1	1	1	_
10	sf22	1	1	2	_	59	GI 42	1	1	1	_
11	sf23	1	1	1	_	60	GI 3	1	1	2	_
12	sf24	1	1	1	_	61	GC 14	1	1	0	_
13	sf25	1	1	1	_	62	GST 3	1	1	1	_
14	sf26	1	1	1	_	63	IG 4	1	1	1	_
15	sf27	0	1	0	_	64	GI 31	2	1	1	_
16	sf29	1	1	1	_	65	GC 17	1	1	1	_
17	sf30	1	1	1	_	66	GC 2	1	1	1	_
18	sf31	0	1	1	_	67	GI 50	1	1	1	_
19	sf32	1	1	2	_	68	GI 1	1	1	1	_
20	sf34	1	1	1	_	69	GI 14	1	1	2	_
21	sf35	1	1	2	_	70	GI 15	1	1	1	_
22	sf36	1	1	1	_	71	GI 25	_	_	_	_
23	sf37	0	1	2	_	72	GI 29	_	_	_	_
24	sf38	2	1	1	_	73	GST 17	_	_	_	_
25	sf41	1	1	1	_	74	GST 13	_	_	_	_
26	sf45	1	1	1	_	75	GST 19	_	_	_	_
27	R2	1	1	1	_	76	GI 6	1	1	1	_
28	R3	1	1	1	_	77	GI 8	1	1	1	_
29	R5	1	1	1	_	78	GI 17	1	1	1	_
30	R6	1	1	2	_	79	GI 22	1	1	1	_
31	R9	1	1	1	_	80	GI 4	1	1	1	_
32	R11	1	1	1	_	81	I 56	1	1	1	_
33	R12	1	1	2	_	82	GC 18	1	1	1	_
34	R17	1	1	1	_	83	GI 32	1	1	1	_
35	R20	1	1	1	_	84	GI 34	1	1	1	_
36	R23	1	1	1	_	85	GI 37	1	1	1	_
37	R24	1	1	1	_	86	GI 47	1	1	1	_
38	R25	1	1	1	_	87	IG 5	1	1	1	_
39	R26	1	1	1	_	88	I 51	1	1	1	_
40	R27	1	1	1	_	89	I 61	1	1	1	_
41	R28	1	1	1	_	90	GST 6	_	_	_	_
42	R30	1	1	1	_	91	GI 23	1	1	1	_
43	R31	1	1	1	_	92	GI 24	1	1	1	_
44	R32	1	1	1	_	93	GI36	1	1	1	_
45	R33	1	1	2	_	94	GI41	1	1	1	_
46	R34	1	1	0	_	95	GST 1	_	_	_	_
47	R35	1	1	1	_	96	GST 10	_	_	_	_
48	R37	1	1	2	_	97	GI 27	_	_	_	_
49	R38	1	1	1	_						

Anexo 4. Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con el método de microdilución en caldo según criterio de CLSI (2015). Donde a: ciprofloxacina, b: tetraciclina, c: azitromicina, d: eritromicina. 0= sensible; 1= resistente; 2= intermedio; _=no evaluado.

#	Cepa	Antimicrobiano				#	Cepa	Antimicrobiano			
		a	b	c	d			a	b	c	d
1	sf10	1	1	1	1	50	R39	1	1	1	1
2	sf11	2	1	1	1	51	F8	1	1	2	1
3	sf12	2	1	1	1	52	F10	1	1	2	1
4	sf14	1	1	1	1	53	GST 18	1	1	1	1
5	sf15	1	1	1	1	54	GI 5	1	1	1	1
6	sf17	1	1	1	1	55	GST 20	1	1	1	1
7	sf18	1	1	2	1	56	GI43	1	1	1	1
8	sf19	1	1	1	1	57	GI 7	1	1	2	1
9	sf21	1	1	1	1	58	GC 16	1	1	1	1
10	sf22	1	1	2	1	59	GI 42	1	1	1	1
11	sf23	1	1	1	1	60	GI 3	1	1	1	1
12	sf24	1	1	1	1	61	GC 14	1	1	1	1
13	sf25	1	1	1	1	62	GST 3	1	1	1	1
14	sf26	2	1	1	1	63	IG 4	1	1	1	1
15	sf27	2	1	1	1	64	GI 31	1	1	1	1
16	sf29	1	1	1	1	65	GC 17	1	1	1	1
17	sf30	1	1	1	1	66	GC 2	1	1	1	1
18	sf31	1	1	2	1	67	GI 50	1	1	1	1
19	sf32	1	1	2	1	68	GI 1	1	1	1	1
20	sf34	1	1	1	1	69	GI 14	1	1	1	1
21	sf35	1	1	1	1	70	GI 15	1	1	1	1
22	sf36	1	1	1	1	71	GI 25	1	1	1	1
23	sf37	1	1	1	1	72	GI 29	1	1	1	1
24	sf38	1	1	1	1	73	GST 17	1	1	1	1
25	sf41	2	1	1	1	74	GST 13	1	1	1	1
26	sf45	1	1	1	1	75	GST 19	1	1	1	1
27	R2	1	1	1	1	76	GI 6	1	1	1	1
28	R3	1	1	1	1	77	GI 8	1	1	1	1
29	R5	1	1	1	1	78	GI 17	1	1	1	1
30	R6	1	1	1	1	79	GI 22	1	1	1	1
31	R9	1	1	1	1	80	GI 4	1	1	1	1
32	R11	1	1	1	1	81	I 56	1	1	1	1
33	R12	1	1	2	1	82	GC 18	1	1	1	1
34	R17	1	1	1	1	83	GI 32	1	1	1	1
35	R20	1	1	1	1	84	GI 34	1	1	1	1
36	R23	1	1	1	1	85	GI 37	1	1	1	1
37	R24	1	1	1	1	86	GI 47	1	1	1	1
38	R25	1	1	1	1	87	IG 5	1	1	1	1
39	R26	1	1	2	1	88	I 51	1	1	1	1
40	R27	1	1	2	1	89	I 61	1	1	1	1
41	R28	1	1	1	1	90	GST 6	1	1	1	1
42	R30	1	1	1	1	91	GI 23	1	1	1	1
43	R31	1	1	1	1	92	GI 24	1	1	1	1
44	R32	1	1	1	1	93	GI36	1	1	1	1
45	R33	1	1	1	1	94	GI41	1	1	1	1
46	R34	1	1	1	1	95	GST 1	1	1	1	1
47	R35	1	1	1	1	96	GST 10	1	1	1	1
48	R37	1	1	1	1	97	GI 27	1	1	1	1
49	R38	1	1	1	1						

Anexo 5. Resultados de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter coli* con los tres métodos de sensibilidad según criterio de CLSI (2015), tomando en cuenta resistencia con cepas clasificadas como intermedias. Donde MDD: Método de difusión en disco; E-test: método de epsilometría; MDP; método de difusión en placa o en caldo.

Antimicrobiano	Método	Resistencia sin Intermedios	Resistencia con intermedios
Ciprofloxacina	MDD	94.85% (92/97)	96.91% (94/97)
	E-test	88.64% (78/88)	93.18% (82/88)
	MDP	94.85% (92/97)	100% (97/97)
Tetraciclina	MDD	100% (97/97)	100% (97/97)
	E-test	100% (88/88)	100% (88/88)
	MDP	100% (97/97)	100% (97/97)
Azitromicina	MDD	58.76% (57/97)	87.63% (85/97)
	E-test	78.41% (69/88)	95.45% (84/88)
	MDP	89.69% (87/97)	100% (97/97)
Eritromicina	MDD	97.94% (95/97)	98.97% (96/97)
	E-test	--	--
	MDP	100% (97/97)	100% (97/97)