



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**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

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Domingo Adrián TORRES NUNTON

ASESOR

Dr. César Aquiles LÁZARO DE LA TORRE

Lima, Perú

2022



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

Torres D. 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 pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2022.

Metadatos complementarios

| Datos de autor | |
|----------------------------------|--|
| Nombres y apellidos | Domingo Adrián Torres Nunton |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 72906079 |
| URL de ORCID | ----- |
| 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 | Daphne Doris Ramos Delgado |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 7607293 |
| Miembro del jurado 1 | |
| Nombres y apellidos | Juan José Siuce Moreno |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 42807429 |
| Miembro del jurado 2 | |
| Nombres y apellidos | Ysaac Rubén Chipayo Gonzales |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 10689451 |
| 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 | - PROCIENCIA - CONCYTEC en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica, 2019-01 [Contrato N° 405-2019- FONDECYT] |

| | |
|--|---|
| | - Universidad Nacional Mayor de San Marcos a través de los proyectos PCONFIGI (Código: A21080431) y PINTERDIS (Código A2108001i) |
| Ubicación geográfica de la investigación | País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800. Latitud: -12.08348 Longitud: -76.984573 |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación | 2020,2021 y 2022 |
| URL de disciplinas OCDE | Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.00 |



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO .
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020**

1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 22/12/2022

HORA INICIO: 08:00 a.m.

HORA TÉRMINO: 9:26am

2. MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE: **MV. Dra. Ramos Delgado, Daphne Doris**

MIEMBRO: **MV. Dr. Siuce Moreno, Juan José**

MEMBRO: **MV. Mg. Chipayo Gonzales, Ysaac Rubén**

ASESOR: **MV. Dr. Lázaro De La Torre, César Aquiles**

3. DATOS DEL TESISTA

APELLIDOS Y NOMBRES: **TORRES NUNTON, DOMINGO ADRIÁN**

CÓDIGO: 15080016

R.R. DE GRADO DE TESISTA NÚMERO: **N° 002398-2022-R/UNMSM**

TÍTULO: **"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"**

4. RECOMENDACIONES

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Cambiar el título.2. Mejorar las conclusiones3. Colocar la tesis en formato. |
|---|

Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación: <https://meet.google.com/iex-qksb-ztk>

ID: iex-qksb-ztk

Grabación archivada en:


<https://drive.google.com/file/d/1zfjwpNcGdKX5pdOlsXFU5KxC6W9MOhi/view>

5. NOTA OBTENIDA: ...16... (en números),Dieciséis.....(en letras)

6. PÚBLICO ASISTENTE: (Nombre, apellido y DNI)

| Nombres y apellidos | DNI | Correo electrónico |
|-------------------------------------|----------|---------------------------------|
| Domingo Torres Nunton | 72906079 | domingo.torres@unmsm.edu.pe |
| Daphne Ramos Delgado | 7607293 | dramosd@unmsm.edu.pe |
| César Lázaro De La Torre | 40628304 | clazarod@unmsm.edu.pe |
| Juan Siuce Moreno | 42807429 | jsiucem@unmsm.edu.pe |
| Ysaac Chipayo Gonzales | 10689451 | ychipayog@unmsm.edu.pe |
| Faride Altamirano Zevallos | 43695598 | faltamiranoz@unmsm.edu.pe |
| Víctor Hugo Castillo Doloriert | 8703624 | vcastillod@unmsm.edu.pe |
| Sergio Danilo Pezo Carreón | 24674530 | spezoc@unmsm.edu.pe |
| Rosa González Veliz | 10300467 | rgonzalezv@unmsm.edu.pe |
| Erick André Rojas Monzón | 73741249 | erickandre.rojas@unmsm.edu.pe |
| Ángela Patricia Vilchez Yasuda | 72885442 | angela.vilchez@unmsm.edu.pe |
| María Antonia Yupanqui Pimentel | 72284500 | maria.yupanquil@unmsm.edu.pe |
| Kiara Cáceres Bautista | 75503719 | kiara.caceres@unmsm.edu.pe |
| Claudia Valeria Nuñez La Torre | 71220558 | claudia.nunezl@unmsm.edu.pe |
| Jhovanna Mayra Yarin Carrizales | 72880766 | jhovanna.yarin@unmsm.edu.pe |
| Beatriz Angélica Cochachín Guerrero | 71246915 | beatriz.cochachin@unmsm.edu.pe |
| Carla Meza | 72400127 | Carla.meza1@unmsm.edu.pe |
| Alonso Callupe | 74166937 | josealonso.callupe@unmsm.edu.pe |
| Estefany Doroty Hurtado Lozano | 74599702 | estefany.hurtado@unmsm.edu.pe |
| Andrés Trujillo Peña | | Informatica.fmv@unmsm.edu.pe |

7. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

| |
|--|
|  <p>Firmado digitalmente por RAMOS DELGADO Daphne Doris FAU 20148002282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 28.02.2023 16:24:38 -05:00</p> |
| Firma |
| MV. Dra. Ramos Delgado, Daphne Doris |
| Apellidos y Nombres |
| PRESIDENTE |

| | | |
|--|--|--|
|  <p>Firmado digitalmente por LAZARO DI LA TORRE Cesar Aquiles FATJ 20148092262 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 23.02.2023 15:28:53 -05:00</p> <p>Firma</p> |  <p>Firmado digitalmente por SIU MORENO Juan Jose FATJ 20148092262 soft Motivo: Soy el autor del docu Fecha: 27.02.2023 22:43:14</p> <p>Firma</p> |  <p>Firma</p> |
| <p>MV. Dr. Lázaro De La Torre, César Aquiles</p> <p>Apellidos y Nombres</p> | <p>MV. Dr. Siuce Moreno, Juan José</p> <p>Apellidos y Nombres</p> | <p>MV. Mg Chipayo Gonzales, Ysaac Rubén</p> <p>Apellidos y Nombres</p> |
| <p>ASESOR DE LA TESIS</p> | <p>MIEMBRO JURADO</p> | <p>MIEMBRO JURADO</p> |



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
2. Escuela: Medicina Veterinaria
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei Vicent
5. Operador del Programa Informático de similitudes: Sandoval Monzón Rocío Silvia.
6. Documento evaluado: "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"
7. Autor del documento: Domingo Adrián Torres Nunton
8. Fecha de recepción del documento: 21 de noviembre del 2022
9. Fecha de aplicación del programa informático: 21 de noviembre del 2022
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecorridos
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 10%
13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - Cybertesis.unmsm.edu.pe: 5%
 - repositorio.ug.edu.ec: 1%
 - Urdaneta Vargas, Saulo Hely, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. "Epidemiología de *Campylobacter* spp. en granjas de pollos de engorde: prevalencia, factores de riesgo y dinámica de infección /" , 2016: 1%
 - Submitted to Universidad de Guadalajara: 1%
 - Cantero Portillo, Juan Guillermo, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. "Campylobacter spp. en granjas de pollos de engorde: diversidad genética, resistencia antimicrobiana y factores de virulencia /" , 2017: 1%
 - doku.pub: 1%
 - iris.paho.org: <1%
 - studylib.es: <1%
14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentra en las secciones de índice de contenido.
15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN OBSERVACIONES. Fecha del informe: 22 de noviembre del 2022



UNMSM

Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA, Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.03.2023 10:18:32 -05:00

Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta
Director EPMV

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo con mucho amor a mis padres María Nunton y William Torres. Quienes son el motor de mi vida y que han compartido conmigo mis anhelos, triunfos y tropiezos. Gracias por su valioso tiempo, por su apoyo constante, por sus consejos, por su paciencia y, sobre todo, por esa confianza que siempre depositaron en mí, no solo durante mi etapa en la universidad, sino a lo largo de mi vida, es algo que jamás olvidaré. Este trabajo es de ustedes, eternamente agradecido, mil gracias capos.

También se lo dedico a mi Mocy, Niña y Peko, quienes me han hecho tremendamente feliz a lo largo de mi vida y que han sido mi motivo de inspiración del por qué estudié esta hermosa carrera, las amo infinitamente mis peloteritas.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, mi Marujita y William, por su confianza hacia mi persona en todo momento, por su apoyo incondicional. Sus consejos y principios los llevaré conmigo toda la vida, los amo infinitamente.

A mi querida Facultad de Medicina Veterinaria, por los momentos vividos dentro de sus aulas, por permitirme conocer excelentes personas y grandes amigos. Simplemente, por permitirme ser parte de su historia.

Al Dr. César Lázaro, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta tesis bajo su asesoría, por su apoyo constante y paciencia para que el desarrollo de esta sea de la mejor manera.

A todas las personas y amistades que contribuyeron con el desarrollo del presente trabajo.

Un agradecimiento muy especial a mis amigos Christian Benites y Brian Yarasca, por la ayuda que me ofrecieron durante el desarrollo del proyecto y que fue muy importante para su culminación.

Este trabajo fue financiado por PROCENCIA - CONCYTEC en el marco de la convocatoria Proyecto Investigación Básica, 2019-01 [Contrato N° 405-2019- FONDECYT].

Este trabajo recibió el apoyo de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a través de los proyectos PCONFIGI (Código: A21080431) y PINTERDIS (Código A2108001i).

ÍNDICE

| | |
|--|------|
| DEDICATORIA | i |
| AGRADECIMIENTOS | ii |
| ÍNDICE..... | iii |
| RESUMEN | vi |
| ABSTRACT..... | vii |
| LISTA DE CUADROS | viii |
| LISTA DE FIGURAS | ix |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 2 |
| 2.1 Campylobacter | 2 |
| 2.1.1 Antecedentes históricos de <i>Campylobacter</i> spp..... | 2 |
| 2.1.2 Características generales de <i>Campylobacter</i> spp. | 3 |
| 2.1.3 Estructura Morfológica..... | 4 |
| 2.1.4 Campilobacteriosis | 6 |
| 2.1.5 Rutas y fuentes de infección | 7 |
| 2.1.6 Factores de virulencia y patogenia..... | 7 |
| 2.1.7 Aspectos clínicos de la infección, complicaciones y tratamiento..... | 9 |
| 2.1.8 Identificación de <i>Campylobacter</i> spp. | 11 |
| 2.2 Importancia en salud publica..... | 13 |
| 2.3 Campylobacter en la carne de pollo..... | 14 |
| 2.3.1 Producción de carne de pollo en el Perú y el mundo | 14 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.3.2 | El pollo como reservorio de <i>Campylobacter</i> spp..... | 15 |
| 2.3.3 | Rutas de transmisión..... | 15 |
| 2.3.4 | Estrategias para evitar la contaminación de carne de pollo..... | 16 |
| 2.3.5 | El empleo de antibióticos en la industria avícola..... | 18 |
| 2.4 | Resistencia antimicrobiana en <i>Campylobacter</i> spp..... | 19 |
| 2.4.1 | Resistencia a Aminoglucósidos..... | 20 |
| 2.4.2 | Resistencia a Tetraciclinas..... | 21 |
| 2.4.3 | Resistencia a Macrólidos..... | 21 |
| 2.4.4 | Resistencia a Fluoroquinolonas..... | 22 |
| 2.4.5 | Identificación de la resistencia antimicrobiana..... | 22 |
| III. | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 23 |
| 3.1 | Tamaño muestral..... | 23 |
| 3.2 | Obtención y procesamiento de muestras..... | 24 |
| 3.3 | Aislamiento microbiológico de <i>Campylobacter</i> spp..... | 26 |
| 3.3.1 | Pre – enriquecimiento..... | 26 |
| 3.3.2 | Siembra en medio selectivo..... | 27 |
| 3.4 | Confirmación microbiológica, morfológica y bioquímica..... | 28 |
| 3.4.1 | Siembra en medio no selectivo..... | 28 |
| 3.4.2 | Evaluación macroscópica y microscópica..... | 28 |
| 3.4.3 | Evaluación bioquímica..... | 29 |
| 3.5 | Confirmación Molecular..... | 30 |
| 3.5.1 | Extracción de DNA..... | 30 |
| 3.5.2 | Cuantificación de DNA..... | 32 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.5.3 | Identificación de especies por PCR | 34 |
| 3.6 | Evaluación de sensibilidad antimicrobiana..... | 35 |
| 3.7 | Cepas control..... | 36 |
| 3.8 | Análisis estadístico | 37 |
| IV. | RESULTADOS..... | 38 |
| 4.1 | Identificación de <i>Campylobacter</i> spp. | 38 |
| 4.2 | Confirmación molecular | 43 |
| 4.3 | Resultados de evaluación de resistencia antimicrobiana..... | 44 |
| V. | DISCUSIÓN | 50 |
| VI. | CONCLUSIONES | 58 |
| VII. | RECOMENDACIONES | 59 |
| VIII. | LITERATURA CITADA..... | 60 |

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la detección de resistencia antimicrobiana fenotípica en aislados de *Campylobacter* spp. las cuales fueron aisladas de carne de pollo envasada, refrigeradas y comercializadas en cuatro distritos de Lima Sur. Para ello se tomaron muestras de 120 cortes frescos de pierna con encuentro empaquetadas, refrigeradas y vendidas en supermercados de cuatro distritos de Lima Sur. Las muestras de carne fueron sometidas a enriquecimiento en caldo Preston (42°C/24h en condiciones de microaerofilia) y posterior sembrado en agar mCCD (42°C/48h en condiciones de microaerofilia). Las colonias sospechosas fueron evaluadas mediante morfología macro y microscópica, crecimiento en agar Sangre (42°C/48h) y pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa e hipurato. Cepas compatibles con *Campylobacter* spp. fueron sometidas a evaluación de la sensibilidad antimicrobiana para azitromicina, eritromicina, ciprofloxacino y tetraciclina en placas de Mueller-Hinton sangre (42°C/48h en condiciones de microaerofilia). Del total de muestras procesadas, el 46,6% (56/120) fueron positivas a *Campylobacter* spp. El posterior análisis por PCR permitió confirmar que el 7.2% (04/56) del total de cepas correspondieron a *Campylobacter jejuni* mientras que el 92.8% (52/56) a *Campylobacter coli*. Con respecto a la resistencia antimicrobiana, se observó que el 78.6% (44/56) fueron resistentes a los tres grupos antimicrobianos evaluados. Se concluye que las muestras de carne de pollo (corte pierna con encuentro) envasadas, refrigeradas y vendidas en supermercados de cuatro distritos de Lima Sur presentaron contaminación con *Campylobacter* spp. Así mismo, se pudo observar una elevada tasa de resistencia a los antibióticos evaluados.

Palabras claves: *Campylobacter*, carne de pollo, resistencia antimicrobiana

ABSTRACT

The aim of this study was the detection of phenotypic antimicrobial resistance in strains of *Campylobacter* spp. which were isolated from packaged chicken meat, refrigerated and marketed in supermarkets in South Lima. For this, samples of 120 fresh leg cuts were taken with three commercial brands packaged, refrigerated, and sold in supermarkets located in four South Lima districts. Meat samples were enriched in Preston broth (42°C/24h under microaerophilic conditions) and subsequently seeded on mCCD agar (42°C/48h under microaerophilic conditions). Suspicious colonies were evaluated by macro- and microscopic morphology, growth on blood agar (42°C/48h) and biochemical tests for catalase, oxidase and hippurate. Strains compatible with *Campylobacter* spp. were subjected to evaluation of antimicrobial susceptibility to azithromycin, erythromycin, ciprofloxacin, and tetracycline in Mueller-Hinton blood plates (42°C/48h under microaerophilic conditions). Of the total samples processed, 46.6% (56/120) were positive for *Campylobacter* spp., 72.5% (29/40). The subsequent PCR analysis confirmed that 7.2% (04/56) of the total strains corresponded to *Campylobacter jejuni* while 78.6% (44/56) to *Campylobacter coli*. Regarding antimicrobial resistance, it was observed that 94.6% (53/56) were resistant to the three groups of antibiotics evaluated. It can be concluded that the samples of chicken meat (leg cut with joint) packaged, refrigerated and sold in supermarkets of four districts of South Lima presented contamination with *Campylobacter* spp. Likewise, it was observe a high rate of resistance to the antibiotics evaluated.

Keywords: *Campylobacter*, chicken meat, antimicrobial resistance

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | Título | Pág. |
|--------|--|------|
| 1 | Resultados del aislamiento microbiológico y evaluación bioquímica de cepas aisladas de carne de pollo de supermercados en base a la marca comercial colectada | 42 |
| 2 | Resultados del aislamiento microbiológico y evaluación bioquímica de cepas aisladas de carne de pollo en base a los cuatro distritos de Lima Sur | 42 |
| 3 | Resultados de la confirmación molecular de especies patógenas de <i>Campylobacter</i> spp. de cepas aisladas de carne de pollo en base a la marca comercial colectada en supermercados de Lima Sur | 43 |
| 4 | Resultados de la confirmación molecular de especies patógenas de <i>Campylobacter</i> spp. de cepas aisladas de carne de pollo en base a los cuatro distritos de Lima Sur | 44 |
| 5 | Índice de resistencia a múltiples antibióticos (IRMA) de <i>Campylobacter</i> spp (n=56) aislado de carne de pollo comercializado en distritos de Lima Sur | 49 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Título | Pág. |
|--------|---|------|
| 1. | Pasos para la obtención de la muestra de carne de pollo que será sometida a evaluación | 25 |
| 2. | Pasos para el pre-enriquecimiento previo de las muestras | 26 |
| 3. | Pasos para la siembra en agar mCCD | 27 |
| 4 | Pasos para la extracción de DNA | 31 |
| 5 | Pasos para la elución del DNA | 32 |
| 6 | Pasos para la cuantificación de DNA | 34 |
| 7 | Crecimiento de colonias compatibles de <i>Campylobacter</i> spp. en agar mCCD. Obsérvese la presencia de colonias de coloración grisácea de borde irregular, con un crecimiento a manera de "gotas de rocío" | 38 |
| 8 | Crecimiento de colonias compatibles de <i>Campylobacter</i> spp. en agar sangre. | 39 |
| 9 | Prueba de tinción gram para la identificación microscópica de <i>Campylobacter</i> spp. Se observa la presencia de bacterias gram negativas ya sea en forma de "coma" o "ala de gaviota" (flecha azul), así como bacterias bacilares cortas | 40 |

| | | |
|----|---|----|
| 10 | Prueba de catalasa y oxidasa. Imagen A: Prueba de catalasa positiva, obsérvese el desprendimiento de burbujas. Imagen B: Prueba de oxidasa positiva: Obsérvese el cambio de coloración a azul purpurea en la tira de oxidasa | 40 |
| 11 | Prueba de hidrolisis del hipurato. A: Reacción negativa a la prueba debido al no cambio de coloración. B: Reacción positiva a la prueba de hidrolisis del hipurato, obsérvese el cambio de coloración a violeta intenso, resultado sugestivo a <i>C. jejuni</i> | 41 |
| 12 | Prueba de resistencia antimicrobiana "Kirby bauer" en agar Müller Hinton sangre al 5% usando discos de azitromicina (15 µg), eritromicina (15 µg), ciprofloxacino (5µg) y tetraciclina (30µg). | 45 |
| 13 | Numero de cepas resistentes a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas para cada marca comercial (S1: Marca S1, S2: Marca S2, S3: Marca S3) en supermercados de Lima Sur | 46 |
| 14 | Numero de cepas resistentes a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas por cada distrito de Lima Sur | 47 |
| 15 | Cepas de <i>Campylobacter</i> spp. resistentes a 1, 2, 3 o 4 antibióticos para cada marca comercial evaluada (S1: Marca S1, S2: Marca S2, S3: Marca S3) en supermercados de Lima Sur | 48 |
| 16 | Cepas de <i>Campylobacter</i> spp. resistentes a 1, 2, 3 o 4 antibióticos por cada distrito de Lima Sur | 49 |

I. INTRODUCCIÓN

La campilobacteriosis es considerada una de las principales zoonosis causada por *Campylobacter coli* o *Campylobacter jejuni* originando severos cuadros gastroentéricos en humanos. Esta enfermedad es autolimitante; sin embargo, en algunas ocasiones puede necesitar que se aplique un tratamiento que incluye diversas clases de antimicrobianos como los macrólidos y las fluoroquinolonas, los cuales son considerados como primera línea en el tratamiento. Se ha determinado a nivel mundial que la carne de pollo es uno de los principales reservorios de *Campylobacter* spp. La carne de pollo es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial debido a su de fácil acceso económico y a sus propiedades nutricionales. En Perú, en julio del año 2022, el consumo per cápita de carne de pollo fue de 6.25 kg/Hab, siendo actualmente la principal fuente proteica del país. En la industria avícola se ha encontrado que *Campylobacter* spp. es una bacteria recurrente por lo que representa un potencial riesgo, categorizado como un agente de enfermedad transmitida por alimentos. Sin embargo, el riesgo que representa *Campylobacter* spp. se incrementa ya que estas cepas son resistentes a antimicrobianos. Esto se debería al uso no controlado de antimicrobianos, entre ellos del grupo de macrólidos y fluoroquinolonas, durante la crianza de pollos de carne, causando una amenaza a la salud pública. Debido a esto, el presente estudio tiene como objetivo la 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.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Campylobacter*

2.1.1 Antecedentes históricos de *Campylobacter* spp.

Campylobacter spp. pertenece al filo Proteobacteria, clase Epsilonproteobacteria, orden Campylobacterales, familia Campylobacteraceae, género *Campylobacter*. El género *Campylobacter* en la actualidad comprende 31 especies con 13 subespecies (Silva *et al.*, 2020). La historia de *Campylobacter* spp. se remonta al año 1886 cuando fue descrito por primera vez por el pediatra austriaco-germano, profesor de la universidad de Graz y Viena, Theodor Escherich en heces de niños que presentaban diarrea (García-Sánchez *et al.*, 2018; Myintzaw *et al.*, 2021). En 1913, Stockman y McFaydean hallaron un microorganismo con forma curva que ocasionaba abortos en vacas y ovejas. No es hasta el año 1919, cuando Taylor y Smith aislaron el mismo microorganismo de los fluidos fetales de bovinos y lo nombraron *Vibrios fetus* (Costa y Iraola, 2019). En 1931, Jones aisló un *Vibrio* en terneras y vacas con disentería de invierno el cual fue denominado como "*Vibrio jejuni*". Mas adelante, en 1944, Doyle aisló un *Vibrio* en las heces de cerdos que padecían de diarrea y fue denominado como "*Vibrio coli*" (El-Naenaeey *et al.*, 2020).

Su relación con los seres humanos, muy aparte del descubrimiento de Theodor Escherich en 1886, iniciaría en los años siguientes, en donde en muestras de sangre proveniente de mujeres que sufrieron abortos se pudo aislar la bacteria por primera vez. No obstante, no sería hasta el año 1938, el primer caso de Campilobacteriosis en humanos donde se presentó un brote de enteritis a causa del consumo de leche no pasteurizada en una cárcel de Estados Unidos (García-Sánchez *et al.*, 2018). La creación del género *Campylobacter* spp. tuvo lugar en el año 1963 por Verón y Sebald, en donde lo diferenciaron del género *Vibrio* basándose en su metabolismo fermentativo, baja base de C y G de su ADN y requisitos para las condiciones de su crecimiento microaeróbico (El-Naenaey *et al.*, 2020).

Para la década de 1970, el desarrollo e implementación de medios de cultivo selectivos generó que más laboratorios puedan detectar la presencia de *Campylobacter* spp. en muestras de heces. Al poco tiempo, el género *Campylobacter* fue nombrado como patógeno entérico para la salud en personas (Bhunia, 2018). No obstante, la gran relevancia de *Campylobacter* spp. como una causa importante de enfermedad en seres humanos se descubrió a principios de 1980, poco después de la creación de medios de cultivo selectivos para su aislamiento en muestras de heces (Costa y Iraola, 2019).

2.1.2 Características generales de *Campylobacter* spp.

Campylobacter spp. es considerado un microorganismo gram negativo con aspecto de varilla curva o espiral, un tamaño entre 0,5 - 5 μm de largo y 0,2 - 0,8 μm de ancho, respectivamente. Así mismo, presenta una motilidad parecida a la de un sacacorchos favorecida por la presencia de un flagelo en uno o ambos extremos de la bacteria. En presencia de estrés ambiental, *Campylobacter* spp. puede presentar formas cocoides o esféricas que son viables, pero no cultivables. De igual manera, su temperatura óptima de crecimiento es de 37° a 42°C en condiciones de microaerofilia (Chon *et al.*, 2020).

Campylobacter jejuni presenta un genoma relativamente pequeño, de 1,5Mb a 2,05Mb y con una relación baja de guanina - citosina alrededor del 32% en comparación con el genoma de *Escherichia coli* el cual es de 4,6 Mb y un contenido de guanina – citosina de 50,54% (Iglesias, 2018). Presenta un genoma central y un genoma accesorio, el primero consta de entre 866 y 1350 genes mientras que el segundo de entre 2500 y 4000 genes, respectivamente. En lo que respecta a sus funciones, el genoma central de *Campylobacter* spp estaría involucrado en el metabolismo energético, división celular y síntesis de macromoléculas dentro de las cuales están las proteínas, ADN y ARN, en tanto que el genoma accesorio estaría compuesto por regiones hipervariables, plásmidos y genes con variabilidad individuales o emparejados (García-Sánchez *et al.*, 2018).

2.1.3 Estructura Morfológica

La pared celular de las bacterias Gram negativas como *Campylobacter* spp, está compuesta por una membrana interna (llamada también membrana citoplasmática), una pared celular compuesta de peptidoglicano y la membrana externa. Entre las 2 membranas, tanto la interna como la externa, existe el llamado espacio periplásmico el cual está compuesto por una sustancia llamada periplasma (Alav *et al.*, 2021).

La membrana externa está formada por una hoja interna y una hoja externa. La primera, compuesta por una bicapa de fosfolípidos, principalmente de fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol y cardiolipina. La hoja externa está formada principalmente por un glicolípido único conocido como lipopolisacárido (LPS) (Miller y Salama, 2018). El LPS, a su vez, está compuesto de un lípido A, un oligosacárido central que está formado por un núcleo interno conservado y un núcleo externo variable y un polisacárido O (antígeno O). La composición de los lipopolisacáridos es altamente variable (García-Vello *et al.*, 2021). La capa de peptidoglicano es la encargada de brindarle rigidez y firmeza a la pared celular bacteriana y está compuesta por hebras de unidades repetidas y alternas de ácido N -acetilmurámico (MurNAc) y

N -acetilglucosamina unidos por el enlace b 1-4 y asociados a cortas cadenas peptídicas a través del N -acetilmuramico (Firdich *et al.*, 2017).

El flagelo está conformado por un cuerpo basal en forma de gancho y las diversas estructuras del filamento extracelular. En lo que respecta al cuerpo basal, presenta una estructura base la cual se encuentra incrustada en la membrana interna y citoplasma, el gancho presente en la superficie y la varilla periplásmica con sus estructuras anillares asociadas (Ammar *et al.*, 2021). Así mismo, la varilla periplásmica se encuentra anclada a proteínas motoras las cuales proporcionan energía para el movimiento del flagelo (García-Sánchez *et al.*, 2018). Este sistema está compuesto por varias proteínas con diferentes roles. Las proteínas interruptoras motoras (FliM, FliG, FliN y FliY), proteínas T3SS (FlhA, FlhB, FliO, FliP, FliQ, FliR, FliF), estructuras motoras (MotA y MotB) y proteínas menores del gancho (FliK, FliM, FlgE, FlgI y FlgH). Así mismo, el filamento extracelular este compuesto por la proteína flagelina, principalmente de las subunidades FlaA y FlaB (Ammar *et al.*, 2021; Bhunia, 2018).

A diferencia de otras bacterias, *Campylobacter* spp es capaz de realizar una amplia modificación postraduccional (PTM) de las proteínas por medio de los sistemas de N -glicosilación y O – glicosilación los cuales son necesarios para una óptima colonización en pollos y la virulencia humana. El sistema de N glicosilación codificado por el locus plg de 10 genes es responsable de la modificación de más de 80 proteínas de membrana (incluida las proteínas del espacio periplásmico, lipoproteínas, proteínas de la membrana interna y al menos una proteína expuesta en la superficie) a diferencia del sistema de o glicosilación el cual solo modifica sus flagelos por medio de la proteína estructural flagelina (Cain *et al.*, 2019). Recubriendo la superficie de *Campylobacter jejuni* se encuentra una capa de moléculas de azúcar conocido como polisacárido capsular (CPS) el cual está implicado en la colonización intestinal del pollo y diversos aspectos en la patogenia de la enfermedad diarreica en humanos como adherencia e invasión de células epiteliales intestinales, activación de receptores tipo toll (TLR) y estimulación de citoquinas (Cayrou *et al.*, 2021; Riegert y Raushel, 2021).

2.1.4 Campilobacteriosis

La infección por *Campylobacter* spp. se caracteriza por ser autolimitada, causando síntomas leves a severos como diarrea, fiebre, dolor corporal, vómitos y fatiga. Sin embargo, en niños muy pequeños, ancianos, pacientes inmunosuprimidos o con alguna enfermedad de base, puede presentarse una infección sistémica (bacteriemia) y posteriores complicaciones como sepsis, infecciones del tracto urinario y ciertas neuropatías, en particular, síndrome de Guillain – Barré (SGB), síndrome de Miller Fisher (SMF), artritis reactiva y el colon irritable (Gharbi *et al.*, 2021; Gill, 2021). Las complicaciones de tipo neurológicas son particularmente graves como en el caso del SGB en el cual suelen requerirse cuidados intensivos en aproximadamente el 20% de los casos y su tasa de mortalidad en países desarrollados varía entre un 3 a 10% (Collado, 2020).

Durante el año 2018, los casos de Campilobacteriosis en personas fueron de 264,000 en la Unión Europea (UE), con una tasa de notificación de 64,1 casos por cada 100,000 habitantes. No obstante, a pesar de ser la zoonosis más reportada, tanto en países de la UE como en países en vías de desarrollo, aún se desconoce la real dimensión de casos debido a la falta de notificación (Kittler *et al.*, 2021; Nastasijevic *et al.*, 2020). En Australia la tasa de infección paso de 110,0 casos por cada 100,000 en el año 2009 a 143,5 casos por cada 100,000 habitantes reportados en el año 2019, en Reino Unido, *Campylobacter* spp. sigue siendo la causa más común de gastroenteritis bacteriana en humanos con tasas de infección de 96,8 casos por 100,000 personas en el 2017 (Wallace *et al.*, 2021).

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo de Enfermedades de Prevención y Control (ECDC) en el año 2019 reportaron que la enfermedad zoonótica más prevalente durante el año 2018 en la UE fue Campilobacteriosis y que ha sido así desde el año 2005, mostrando una predisposición creciente al aumento de casos año tras año. Así mismo, se reportó que los cuadros de Campilobacteriosis en todos los casos fueron causados por especies termotolerantes como: *Campylobacter jejuni* (83,9%), *Campylobacter coli* (10,3%), *Campylobacter lari* (0,1%) y *Campylobacter upsaliensis* (0,1%) (Cardoso *et al.*, 2021).

2.1.5 Rutas y fuentes de infección

Existe una amplia gama de animales los cuales son considerados reservorios de *Campylobacter* spp. como las aves de corral, aves silvestres, perros, gatos, ovejas, cabras y vacas (Gahamanyi *et al.*, 2020). Sin embargo, las aves de corral, principalmente pollos de engorde representan el mayor reservorio de esta bacteria y son consideradas la principal fuente de infección a seres humanos (Soto-Beltrán *et al.*, 2022). Sin embargo, existen otras rutas de infección de *Campylobacter* spp. al hombre como son la leche no pasteurizada, derivados lácteos, agua no tratada, insectos y en menor medida, la transmisión de persona a persona (Soto-Beltrán *et al.*, 2022). Campilobacteriosis además de ser un importante problema de salud pública, genera un gran impacto en el aspecto económico, debido a la pérdida en horas de trabajo producto de la infección por *Campylobacter* spp, afectando la productividad de las personas en sus centros laborales. Según la EFSA, los costos en salud pública y productividad por Campilobacteriosis en la Unión Europea ascienden a 2,4 billones de euros al año (Hansson *et al.*, 2018).

2.1.6 Factores de virulencia y patogenicidad

Campylobacter spp. presenta un mecanismo de supervivencia complejo en el huésped y aún no completamente esclarecido. Los estudios sobre la patogenicidad usualmente se realizan en *Campylobacter jejuni* (Ammar *et al.*, 2021).

Después de la ingestión de agua o alimento contaminado, *Campylobacter* spp. atraviesa la barrera ácida de las paredes estomacales y secreciones alcalinas del conducto biliar del tracto intestinal superior (Ammar *et al.*, 2021). Para seguidamente, llegar e invadir las células epiteliales del íleon distal y colon, generando un daño e inflamación celular severa (Bhunja, 2018).

La patogenicidad de la cepa aislada y el nivel de inmunidad del hospedero influyen en las características de la infección (síntomas, duración y severidad) generada por *Campylobacter* spp. (Ugarte, 2015). La mayoría de los factores de virulencia se encuentran involucrados con la motilidad, quimiotaxis, adhesión, colonización del epitelio intestinal, capacidad invasiva, translocación, producción de toxinas y otros mecanismos esenciales para la supervivencia de la bacteria (Sierra-Arguello *et al.*, 2021; Soto-Beltrán *et al.*, 2022).

La motilidad es un proceso necesario para la evasión de ambientes estresantes y está formado por un sistema de quimiosensores y flagelos encargados de impulsar el movimiento de la bacteria dependiendo de las condiciones ambientales. La morfología en espiral de *Campylobacter* spp, además de sus flagelos, le permite desplazarse a través de la capa mucígena que recubre el tracto intestinal, permitiendo alcanzar su sitio ideal de colonización. Este sistema está compuesto por múltiples proteínas, sin embargo, la proteína flagelina (Compuesta por subunidades FlaA y FlaB) es considerado el principal factor de virulencia (El-Naenaey *et al.*, 2020).

La adhesión de *Campylobacter* spp. al epitelio intestinal es un requisito previo a la colonización y esta mediada principalmente por adhesinas (Cantero, 2017). Este proceso se da principalmente por la unión de una proteína presente en la membrana externa llamada cadF a la fibronectina de 37KDa ubicada en las células del epitelio intestinal (Soto-Beltrán *et al.*, 2022). Sin embargo, existen otras proteínas de adhesión como el autotransportador δ apa, proteína de unión periplásmica PEB1, lipoproteína JlpA, proteína principal de membrana externa MOMP y la lipoproteína FlpA (Cantero, 2017; Soto-Beltrán *et al.*, 2022; Taniguchi *et al.*, 2021). Así mismo, Quino *et al.* (2022) menciona que los procesos de adherencia, colonización y termotolerancia de *Campylobacter* spp se encuentran asociados a los genes cadF, racR, flaA y dnaJ. De igual manera, los genes pldA, ciaB juegan un rol importante en la invasión y supervivencia dentro del hospedero (Soto-Beltrán *et al.*, 2022).

Bhunia (2018) menciona que el flagelo de *Campylobacter* spp juega un papel crucial en la invasión mediante el paso de las proteínas no flagelares como flaC y ciaB a través de la proteína de secreción tipo 3 (T3SS) al citoplasma de la célula huésped. Así mismo, entre otros factores de virulencia secretado por los flagelos se encuentran las proteínas CiaC, Cial, lamA y HtrA, las cuales son importantes para la invasión y supervivencia intracelular.

Después de la internalización, la bacteria ingresa a una estructura anclada a la membrana plasmática o vacuola con el objetivo de evadir el sistema inmunológico y sobrevivir hasta hallar las condiciones adecuadas para inducir una respuesta citotóxica (Ammar *et al.*, 2021).

Campylobacter spp. secreta variedad de toxinas, sin embargo, la principal es la toxina de distensión citoletal (CDT) (Bhunia, 2018), codificada por un operón de 3 genes (cdtABC) y formado por tres subunidades que presentan un peso molecular similar: CdtA (30 Kda), CdtB (29 Kda) y CdtC (21 Kda). Las subunidades CdtA y CdtC cumplen la función de unir e interiorizar la bacteria en la célula huésped, mientras que la subunidad CdtB es la subunidad citotóxica, encargada de escindir el ADN, detener del ciclo celular y, por tanto, la muerte celular (El-Naenaey *et al.*, 2020).

Asimismo, otro importante factor de virulencia para la patogenia y supervivencia de la bacteria dentro de la célula huésped, es la adquisición de hierro por parte de *Campylobacter* spp. a partir de la transferrina del suero del hospedero y la lactoferrina de la mucosa. *Campylobacter* spp. no produce sideróforos por sí mismo, sin embargo, utiliza los sideróforos, la enteroquelina y ferricromos secretados por otras bacterias para la adquisición de hierro (Bhunia, 2018).

2.1.7 Aspectos clínicos de la infección, complicaciones y tratamiento

La sintomatología clínica producida por *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* es similar, siendo prácticamente indistinguible (Wallace *et al.*, 2021). Campilobacteriosis suele ser

una enfermedad leve, sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos, niños muy pequeños o pacientes de edad avanzada, puede ser mortal (WHO, 2020). Esta enfermedad afecta en mayor medida a niños y hombres que niñas y mujeres. Así mismo, varios países han reportado una mayor incidencia en infantes y adultos jóvenes (Kuhn *et al.*, 2021). Los primeros síntomas clínicos pueden aparecer entre los 3 a 5 días después del ingreso de la bacteria (WHO, 2020). Sin embargo, esto puede variar entre el primero al décimo día (Ouko *et al.*, 2021). Los síntomas incluyen diarrea acuosa, dolor abdominal, dolor de cabeza, dolor muscular y fiebre, que pueden tener una duración de 7 días a más (Ouko *et al.*, 2021).

La dosis infectiva de *Campylobacter* spp. suele ser baja produciéndose infecciones con tan solo 500 – 800 bacterias (Ghazanfar *et al.*, 2022). Usualmente la enfermedad suele ser una enfermedad leve y autolimitante. Sin embargo, debido a la infección aguda, en ciertas ocasiones se producen complicaciones de inicio temprano como artritis séptica, colecistitis, anemia hemolítica, pericarditis, miocarditis, glomerulonefritis, perforación intestinal y síndrome del intestino pos-infeccioso. Asimismo, pueden producirse complicaciones de inicio tardío y de origen inmunomediado como el SGB, SMF y la artritis reactiva. El SGB es una complicación común producto de la infección por *Campylobacter* spp. Es una enfermedad neurológica que se caracteriza por ocasionar una debilidad progresiva y parálisis flácida en las extremidades, así como también un daño a los músculos respiratorios (Bhunja, 2018).

Campilobacteriosis suele ser una enfermedad autolimitada y no requiere terapia antimicrobiana, de manera usual se trata con reposición y mantenimiento de fluidos intravenosos (Soto-Beltrán *et al.*, 2022). El empleo de antibióticos es recomendable en personas con riesgo de sufrir enfermedad grave (embarazadas, mayores de 65 años y bebés) y personas gravemente enfermas (Francois *et al.*, 2021). En casos de infecciones no complicadas que requieran terapia antimicrobiana, el tratamiento indicado es 10 mg de azitromicina al día durante 3 días o 40 mg/kg de eritromicina al día, dividido en 4 tomas por 5 días. Sin embargo, la terapia antimicrobiana se puede prolongar de 7 a 14 días en pacientes inmunosuprimidos o

pacientes con infecciones complicadas. En caso de no responder al tratamiento oral en pacientes complicados, el uso empírico de carbapenémicos es recomendable. Así mismo, estudios *in vitro* han demostrado la sensibilidad de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* a las tetraciclinas, cloranfenicol y clindamicina; sin embargo, su empleo en la práctica diaria aún está en estudio. Con respecto a los β – lactámicos y trimetoprima son ineficaces frente a *Campylobacter* spp. (Same y Tamma, 2018). Por tanto, el tratamiento antimicrobiano se emplea en casos de invasividad (producto del ingreso de *Campylobacter* spp. a la mucosa intestinal y posterior daño a órganos internos) o para eliminar la condición de portador (eliminación de la bacteria por parte de la persona sin manifestar síntomas de la enfermedad) (WHO, 2020). Sin embargo, en la actualidad *Campylobacter* spp. evidencia un aumento en la resistencia a los antibióticos empleados como primera línea de acción en cuadros de campilobacteriosis complicada (Soto-Beltrán *et al.*, 2022).

2.1.8 Identificación de *Campylobacter* spp.

2.1.8.1 Métodos microbiológicos

Mayormente las especies de *Campylobacter* spp. son termotolerantes, exigentes nutricionalmente y suelen crecer en un ambiente de microaerofilia (3-5% CO₂, 5-10% O₂ y 85% de N₂), sin embargo, ciertas excepciones suelen desarrollarse en un ambiente de aerobiosis o anaerobiosis (El-Naenaey *et al.*, 2020; Molinari *et al.*, 2021). Las especies termotolerantes como *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis* suelen desarrollarse a una temperatura óptima de 42°C, no obstante, en otras especies su temperatura óptima de desarrollo es de 37°C (El-Naenaey *et al.*, 2020). Con respecto a su morfología, se ha visto que las colonias de *Campylobacter* spp. pueden ser planas, irregulares, grises o translúcidas dependiendo el medio de cultivo utilizado (Molinari *et al.*, 2021).

Los métodos de identificación de *Campylobacter* spp. han implicado de manera tradicional, el uso de medios de cultivo selectivos y pruebas bioquímicas. La mayoría de los laboratorios en países en vías de desarrollo no realizan pruebas de manera rutinaria para detectar infección por *Campylobacter* spp. debido a la dificultad en los métodos de detección, especialmente de los requisitos de crecimiento que necesitan condiciones de incubación específicas y costosas (Jribi *et al.*, 2017).

Debido a la gran cantidad de bacterias estresadas presentes en muestras de origen alimenticio o ambiental, *Campylobacter* spp. usualmente requiere de un enriquecimiento previo en un medio líquido (caldo) antes de realizarse la siembra en medios selectivos (El-Naenaey *et al.*, 2020). Se han probado diversos caldos de enriquecimiento para *Campylobacter* spp. como el caldo Preston, caldo Bolton y caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* spp. con el fin de evaluar su efectividad (El-Naenaey *et al.*, 2020). Sin embargo, según la última actualización de la norma ISO 10272-1:2017, a partir del año 2017, se reemplaza el uso de caldo Bolton por caldo Preston, con el objetivo de superar los problemas de microflora resistente a β -lactámicos como cefoperazona presente en caldo Bolton.

Asimismo, existen diversos medios sólidos selectivos que ayudan a la recuperación de *Campylobacter* spp. y reducen la flora competitiva. Están hechos a base de agar los cuales se encuentran suplementados con carbón activado (Agar CCD) o con sangre de cordero (Agar Preston, Agar Bolton, Agar Skirrow, entre otros) (Collado, 2020). Sin embargo, el empleo de agar CCD sigue siendo considerado el principal medio selectivo, por su capacidad de aislar un mayor número de cepas de *Campylobacter* spp. (Urdaneta, 2016).

Campylobacter spp. requiere la presencia de condiciones de microaerobiosis o microaerofilia, estos pueden ser producidos mediante sachet o packs de microaerofilia como CampyGen (Oxoid) o Gaspak EZ Campy (BD Difco), los cuales son colocados en jarra de anaerobiosis. De forma similar, estas condiciones se pueden generar mediante métodos de evacuación y reemplazo de gases en las jarras de anaerobiosis (Collado, 2020).

2.1.8.2 Métodos bioquímicos

Con respecto a las pruebas bioquímicas, *Campylobacter* spp. presenta baja actividad. Por tanto, su identificación fenotípica para diferenciarlo a nivel de especie suele ser limitada (Collado, 2020; El-Naenaeey *et al.*, 2020). De hecho, *Campylobacter jejuni*, es la única especie con la capacidad de identificarse mediante pruebas bioquímicas por su capacidad de hidrolizar el hipurato, de esta forma puede diferenciarse de otras especies de *Campylobacter* spp. (Alarjani *et al.*, 2021; Collado, 2020).

2.1.8.3 Métodos Moleculares

Debido a las imprecisiones y dificultades en la identificación fenotípica de *Campylobacter* spp. se recurre al empleo de diversas pruebas moleculares para la complementación o sustitución de las pruebas bioquímicas. El hallazgo de secuencias específicas de especie mediante el empleo del PCR es auxiliar, principalmente cuando se quiere hallar la diferenciación entre cepas de *Campylobacter jejuni*, las cuales fueron negativas a la prueba de hipurato y *Campylobacter coli* (El-Naenaeey *et al.*, 2020).

2.2 Importancia en salud pública

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), *Campylobacter* spp. es considerado el principal patógeno zoonótico en el todo el mundo transmitido por los alimentos, responsable de los cuadros de Campilobacteriosis en personas, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (Abd El-Hack *et al.*, 2020; Cardoso *et al.*, 2021; Sithole *et al.*, 2021). La mayoría de las infecciones son causadas por especies termotolerantes como *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* (Wangroongsarb *et al.*, 2021). Anualmente, 550 millones de personas padecen enfermedades diarreicas donde una de cada 10, es debido a la infección por *Campylobacter* spp (Nastasijevic *et al.*, 2020). En los países en vías de desarrollo, los casos de

campylobacteriosis son particularmente frecuentes en menores de 2 años, siendo en algunos casos, mortales (WHO, 2020).

La elevada tasa de cuadros diarreicos, su duración y las posibles complicaciones, confieren a *Campylobacter* spp, gran importancia desde el punto de vista socioeconómico (WHO, 2020). En la Unión Europea, los gastos en pacientes y servicios de salud debido a infecciones por *Campylobacter* spp superaron los £50 millones durante los años 2008 y 2009, así mismo el costo de hospitalización por SBG asociado a *Campylobacter* spp fue de £1,26 millones (Hansson *et al.*, 2018) en Nueva Zelanda, campylobacteriosis es la ETA más costosa con un gasto promedio anual de 134 millones de dólares neozelandeses en 2006 – 2007 (Baker *et al.*, 2020).

2.3 Campylobacter en la carne de pollo

2.3.1 Producción de carne de pollo en el Perú y el mundo

A nivel mundial, durante el año 2019 la producción de carne fue 207 millones de toneladas donde la carne de pollo constituyó el 57% de esta cantidad. Los mayores productores de carne de pollo a nivel mundial son EE. UU con un 17%, Brasil (12.3%), China (11.5%), Rusia (5%) e India (3.5%). Así mismo, en el mismo periodo se exportaron 16.9 millones de toneladas donde Brasil fue el mayor exportador con un 24%, seguido de EE. UU (20.5%), Países Bajos (8.4%), Polonia (6.2%), China (3.5%), Bélgica (3.1%) y Turquía con un 3.1%.

Con respecto a la importación, se observó que Japón fue el mayor país en importar de carne de pollo con un 7.2%, seguido de México (5.8%), China (5.7%), Hong Kong (4.8%), Arabia Saudita y Alemania, ambos con un 4.3% (Uzundumlu y Dilli, 2022).

A nivel latinoamericano, el Perú es considerado el cuarto productor de carne de pollo por detrás de Brasil, Argentina y Colombia (MINAGRI, 2020). En Perú, durante el año 2021 el consumo per cápita de carne de pollo fue 50.96 kg/hab. Para diciembre de 2021, el sector avícola participo con el 26.4% dentro del Valor Bruto de la Producción Agropecuaria y, es

considerada la principal fuente de proteína animal a nivel nacional y regional (MIDAGRI, 2022).

Con respecto a la producción nacional de pollo, para diciembre del año 2021, se observó que las mayores regiones productoras fueron lima (54.9%), La Libertad (17.0%), Arequipa (10.8%) e Ica con 4.4% debido a una mayor producción de pollos bebe de la línea de carne en estas regiones con respecto al año anterior (MIDAGRI, 2022).

2.3.2 El pollo como reservorio de *Campylobacter* spp.

El tracto gastrointestinal aviar es considerado el reservorio natural de *Campylobacter* spp (Andrzejewska *et al.*, 2019). *Campylobacter* spp. es parte de la flora intestinal de todos los animales de sangre caliente (porcino, bovino, ovino), sin embargo, las aves de corral, debido a su temperatura corporal alta (40 - 42°C), parece ser el nicho ideal para su colonización (Johnson *et al.*, 2017). El tracto digestivo de las aves de corral es considerado un ambiente hostil, sugiriéndose que *Campylobacter* spp. presenta la capacidad de adaptarse a diferentes situaciones de estrés ambiental, no obstante, aún se conoce poco sobre sus mecanismos de supervivencia (Bolton, 2015). Los niveles de *Campylobacter* spp. en el tracto intestinal de pollos de carne pueden superar los 10⁸ UFC/g de contenido fecal donde pueden excretarse por mucho tiempo, pudiendo ocasionar una contaminación de la carne al momento del sacrificio (Bailey *et al.*, 2018).

2.3.3 Rutas de transmisión

Campylobacter spp. presenta una ruta de transmisión horizontal y vertical. La forma horizontal se da en las aves mediante la ruta fecal – oral donde seguidamente coloniza el ciego, intestino delgado e hígado (Abd El-Hack *et al.*, 2020). Este tipo de transmisión se produce a partir de la segunda o tercera semana de edad en los pollos de carne debido a la caída progresiva

de los anticuerpos maternos que se da después de la primera semana post eclosión hasta el final de la tercera semana (Abd El-Hack *et al.*, 2020). Tiende a expandirse de manera acelerada en toda la parvada hasta la sexta o séptima semana, lo cual coincide con la edad de sacrificio (Pérez, 2014) favorecida, entre otros factores, a la contaminación del agua de bebida, presencia de animales externos (Abd El-Hack *et al.*, 2020), comportamiento de la coprofagia habitual en las aves, la contaminación de la cama o agua de bebida o mediante la presencia de diversos vectores como roedores, insectos incluido el personal mismo de la granja (Ugarte, 2015).

Con respecto a la transmisión vertical, se ha sugerido este tipo de transmisión tomando en cuenta que se halló *Campylobacter* spp. en el tracto reproductivo de gallinas y semen de gallos progenitores, de igual manera, se ha observado la colonización de *Campylobacter* spp. en el contenido de huevos y su penetración a través de la cascara (Yan *et al.*, 2021). Sin embargo, aún no existe evidencia suficiente de este tipo de transmisión, siendo esta afirmación respaldada por la ausencia de colonización de *Campylobacter* spp. durante las primeras semanas de vida en pollos recién nacidos de parvadas reproductoras las cuales estuvieron infectadas con *Campylobacter* spp (Sibanda *et al.*, 2018). Si existe transmisión vertical en pollos de carne, no es considerada una fuente de infección primaria (Ugarte, 2015).

2.3.4 Estrategias para evitar la contaminación de carne de pollo

Las estrategias de control en la contaminación de *Campylobacter* spp. en los pollos de carne se han centrado principalmente en prevenir y disminuir la colonización de *Campylobacter* spp. en el intestino de las aves, de esta manera, indirectamente se estaría reduciendo el recuento de *Campylobacter* spp. en la canal de los pollos de engorde y, en consecuencia, la reducción de los casos de campilobacteriosis en personas (Abd El-Hack *et al.*, 2020). Existen 2 grandes enfoques para prevenir y controlar la presencia de *Campylobacter* spp. en las parvadas de pollos de engorde las cuales son: Bioseguridad y, prevención o reducción de la colonización mediante el empleo de vacunación, bacteriocinas, bacteriófagos, aditivos para piensos y exclusión

competitiva (Zhang y Sahin, 2020). Diversos estudios han evidenciado una alta correlación entre la disminución de infección de *Campylobacter* spp en pollos de carne con estrictas medidas de bioseguridad y adecuadas medidas higiénicas en granja como lavarse las manos antes de entrar a los galpones, colocar pediluvios para la desinfección, ingreso a las parvadas solo del personal autorizado, designar equipos de protección personal para cada galpón, capacitación al personal sobre la importancia en las medidas de higiene, control de plagas como insectos y roedores, descontaminación de los suministros de agua potable, etc. (Zhang y Sahin, 2020). Según (Abd El-Hack *et al.*, 2020) el hallazgo de *Campylobacter* spp. en pollos de engorde disminuyó de 65% a menos de 25% en una granja avícola y en otra de 100% a 42% como resultado del aumento en la implementación de estrategias de bioseguridad en granjas.

La vacunación puede considerarse un punto clave en la lucha para evitar la colonización de *Campylobacter* spp. en los pollos de engorde. A lo largo de los años se han realizado diversos estudios empleando diversas estrategias como: El uso de bacterias enteras inactivadas o atenuadas, vacunas de subunidades mediante el empleo de la flagelina como antígeno, combinación de proteínas de la membrana externa (OMP) encapsuladas en nanopartículas de ácido poli (láctico-co-glicólico), empleo de proteínas que participan en la adhesión de *Campylobacter* spp. a la mucosa intestinal como FlpA, CadF y CmeC y vacunas vectorizadas (Zhang y Sahin, 2020). Este último se basa en la inserción de plásmidos con el ADN de interés en microorganismos que actúan como vector. Diversos autores han evaluado la reducción de *Campylobacter* spp. en los ciegos, empleando como vector, cepas atenuadas de *Salmonella* spp. con resultados inconsistentes. Sin embargo, otros estudios reportan resultados alentadores donde observaron una reducción de hasta $2.48 \log^{10}$ UFC/g respecto al grupo control (Urdaneta, 2016).

Para el caso de las subunidades de flagelina, pese a que se han evidenciado resultados esperanzadores, esta no puede emplearse como una alternativa de vacunación a gran escala por varias razones: Variación de la flagelina ante variedad de cepas de *Campylobacter* spp. ocasiona falta de protección cruzada contra diversas cepas que pueden colonizar a pollos de engorde, así mismo, ciertos anticuerpos son capaces de reconocer patrones de glicosidación con fases

variables, generando que *Campylobacter* spp. sea capaz de evadir el sistema inmunológico al ser capaz de modificar la naturaleza y cantidad de estos residuos (Abd El-Hack *et al.*, 2020). Para el caso de la vacuna vectorizada, si bien es cierto de que se ha evidenciado resultados alentadores, el hecho de ser una vacuna viva atenuada, genera que el fenómeno de la reversión a la virulencia pueda presentarse al adquirir ciertos genes del entorno, generando que los vectores de antígenos puedan transformarse en patógenos para las aves vacunadas como *Salmonella* spp (Urdaneta, 2016).

A pesar de los trabajos realizados y algunos resultados prometedores, en la actualidad, no existen vacunas en el mercado frente a *Campylobacter* spp. en pollos de engorde. Los diferentes programas de vacunación han evidenciado una eficacia limitada debido a la corta vida útil de los pollos de engorde y la necesidad de estimular respuestas inmunitarias en la mucosa intestinal, así como a los altos costos en la producción de vacunas, lo que genera un gran reto para desarrollar una vacuna efectiva (Abd El-Hack *et al.*, 2020).

2.3.5 El empleo de antibióticos en la industria avícola

En los últimos 50 años, el empleo de antibióticos en conjunto con adecuadas medidas de bioseguridad e higiene, han conllevado a prevenir el impacto negativo de diversas enfermedades aviares en la industria avícola y, por ende, su desarrollo hasta la actualidad (Mehdi *et al.*, 2018). Los antibióticos suelen emplearse en toda la parvada como suplemento alimenticio y tienen como objetivo el tratamiento y prevención de enfermedades, aumentar la productividad y promover el crecimiento de las aves de corral (Mohammadzadeh *et al.*, 2021). En Estados Unidos, se estima que el 80% de la venta total de antibióticos está destinado a la producción animal (Tian *et al.*, 2021).

Su empleo en la industria avícola está permitido en todos los grandes países productores de pollos de carne para la prevención de enfermedades. Se emplean como tratamiento frente a enfermedades intestinales como enteritis necrótica, colibacilosis y salmonelosis en las aves de

corral debido a las grandes pérdidas económicas que ocasionan (Roth *et al.*, 2019). El tipo y alcance de antibiótico a emplear, varía de un país a otro según su economía y nivel de desarrollo, así como de la especie y número de animales a criar (Roth *et al.*, 2019).

Los antibióticos se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción, familia química y las especies bacterianas sobre las que actúan. Los antibióticos bactericidas se encargan de eliminar a la bacteria, en cambio, los bacteriostáticos inhiben su proliferación y facilitan el proceso de fagocitación por parte del sistema inmunológico. (Mehdi *et al.*, 2018).

Según (Roth *et al.*, 2019), los antibióticos aprobados en los países productores de pollo de carne son las cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas, macrólidos y polimixinas con la excepción del empleo de fluoroquinolonas en EE. UU y las cefalosporinas en la Unión Europea. En EE. UU, los antibióticos más empleados en la crianza de pollos de carne son tetraciclina, tilosina, bacitracina, virginiamicina, bambamicina y salinomicina, sin embargo, la tetraciclina representa más de dos tercios del total de antibióticos usado en las aves de corral, mientras que en la Unión Europea solo representa un tercio (Mehdi *et al.*, 2018). Entre los antibióticos más comúnmente empleados en la crianza de aves de corral se encuentran las tetraciclinas, macrólidos y fluoroquinolonas siendo los 2 últimos, antibióticos de primera elección en casos de Campilobacteriosis lo cual podría estar asociado con el posible aumento de cepas resistentes (Roth *et al.*, 2019).

2.4 Resistencia antimicrobiana en *Campylobacter* spp.

Campilobacteriosis suele ser una enfermedad leve y autolimitante donde de manera general, el empleo de antibióticos no es rutinario. Sin embargo, en pacientes complicados con infección sistémica o prolongada, la terapia antimicrobiana es necesaria (Ammar *et al.*, 2021). En los últimos años, la resistencia a los antibióticos por parte de las bacterias de origen alimenticio se ha convertido en un importante problema de salud pública. Muchas de estas bacterias, incluido el género *Campylobacter* pueden ser resistente a uno o más antimicrobianos,

limitando su acción terapéutica y, por ende, la necesidad de buscar constantemente nuevas alternativas para tratar las infecciones (Silva *et al.*, 2018).

La presencia de *Campylobacter* spp. en el tracto digestivo de diferentes animales domésticos, conllevó a la exposición de esta bacteria a diferentes clases de antimicrobianos, incluido el grupo de las fluoroquinolonas como la ciprofloxacina y enrofloxacina. La administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha prohibido el empleo de las fluoroquinolonas en la crianza avícola de dicho país, debido a que están asociados con generar elevadas tasas de resistencia en productos alimenticios y granjas avícolas (Ammar *et al.*, 2021). *Campylobacter* spp. presenta una resistencia innata a ciertos fármacos como la nafcilina, vancomicina, sulfametoxazol, oxacilina y cloxacilina. Sin embargo, la adquisición de resistencia a diversos antibióticos puede ser como consecuencia del uso inapropiado de estos en la salud animal y salud humana (Ammar *et al.*, 2021).

De forma principal, *Campylobacter* spp. presenta 4 mecanismos de resistencia a los antibióticos los cuales son: modificación o inactivación del antimicrobiano mediante la producción enzimática (producción de β – lactamasas), disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano (mediante cambios en el diámetro o número de porinas), bombas de eflujo para la expulsión activa de fármacos de la célula y modificación del objetivo del antimicrobiano y/o su expresión (mediante mutaciones del gen *gyrA* o ARN ribosómico 23S). *Campylobacter* spp. presenta varios de estos mecanismos de resistencia lo cual, le confieren un mayor grado de resistencia a los principales antimicrobianos como los macrólidos, quinolonas, tetraciclinas, B Lactámicos y aminoglucósidos (Silva *et al.*, 2018).

2.4.1 Resistencia a Aminoglucósidos

La resistencia frente a los aminoglucósidos en diversas especies bacterianas, incluida *Campylobacter* spp. presenta diversos mecanismos siendo el más prevalente e importante la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME) (Zhang *et al.*, 2021) codificada por genes presentes en plásmidos (Ammar *et al.*, 2021). Estas enzimas están

agrupadas en tres familias según las reacciones que catalizan: aminoglucósido nucleotidiltransferasa, aminoglucósido fosfotransferasa (APH) y aminoglucósido acetiltransferasa (AAC) (Zhang *et al.*, 2021)

2.4.2 Resistencia a Tetraciclinas

Con respecto a las tetraciclinas, la bomba de flujo CmeABC codificada por un operón de tres genes ubicado en el cromosoma, en conjunto con la proteína ribosomal TetO codificado por el gen tetO presente en los plásmidos transmisibles, confieren la alta resistencia de *Campylobacter* spp. frente a esta familia de antibióticos (Sharifi *et al.*, 2021). Las bombas de flujo son especialmente preocupantes debido a que carecen de especificidad y, por ende, pueden expulsar con éxito diversas clases de antibióticos (Yang *et al.*, 2019). Esto puede observarse en el estudio de (Yao *et al.*, 2016) el cual hallaron una variante de bomba de flujo conocida como RE-CmeABC brindando a *Campylobacter* spp. la capacidad de resistencia a múltiples fármacos.

2.4.3 Resistencia a Macrólidos

Con respecto a los macrólidos, la bomba de expulsión de antibióticos (CmeABC y RE-CmeABC), la metilación ribosómica causada por un erm B (eritromicina metilasa ribosomal), y las mutaciones en el gen rplD/rplV (encargados de codificar la proteína de la subunidad ribosomal 50S L4 y I22) y ARNr 23s, son considerados los 3 principales mecanismos de resistencia a macrólidos en *Campylobacter* spp. (Liu *et al.*, 2019). Sin embargo, el mecanismo de metilación ribosomal para la subunidad 23S llevado a cabo por un erm B es especialmente importante, debido a que el gen presenta la capacidad de transferirse horizontalmente entre cepas de *Campylobacter* spp. confiriendo así, un alto grado de resistencia (Anampa *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2014). Así mismo, la mayoría de loci ermB se localizan en islas genómicas resistentes a múltiples fármacos, otorgando resistencia a una variedad de antibióticos incluidos aminoglucósidos, fosfomicinas y tetraciclinas (Liu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2014).

2.4.4 Resistencia a Fluoroquinolonas

Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), Dinamarca y Noruega son los únicos países miembros de la Unión Europea (UE) que evidencian tasas elevadas de resistencia frente a la ciprofloxacina. Además, en 5 estados miembros de la UE se observó una tendencia creciente a la resistencia a fluoroquinolonas en *Campylobacter jejuni*. Así mismo, 11 de los 17 países miembros indicaron elevadas tasas de resistencia a la ciprofloxacina (80-100%) (EFSA/ECDC, 2017). Debido al alto índice de resistencia a las fluoroquinolonas por parte de *Campylobacter* spp. su empleo en el tratamiento de pacientes que presentan cuadros de Campylobacteriosis debe ser restringido.

El mecanismo de resistencia a las fluoroquinolonas esta mediada principalmente por mutaciones puntuales en la región determinante de la resistencia a las quinolonas (QRDR) en el gen *gyrA* (Adiguzel *et al.*, 2021), así como también por la bomba de expulsión CmeABC (Ammar *et al.*, 2021).

2.4.5 Identificación de la resistencia antimicrobiana

La falta de un protocolo establecido para el método de difusión de disco empleado para evaluar la resistencia antimicrobiana hizo surgir el método de Kirby-Bauer. El objetivo de la prueba es determinar si una bacteria es sensible o resistente a un determinado grupo de antibióticos. El fundamento de la prueba consiste en absorber el líquido del agar por el disco lo que permite su difusión; la concentración será menor a medida que se aleje del disco a causa de la velocidad de difusión del antibiótico a través del agar. La siembra de las bacterias en la placa previo a la puesta del disco presenta un crecimiento paralelo a la difusión del antimicrobiano a través del agar lo cual indica que el crecimiento bacteriano superó el efecto inhibitorio del antibiótico (Hudzicki, 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tamaño muestral

Para el estudio de presencia de *Campylobacter* spp. se requirió el cálculo de número mínimo de muestras para lo cual se aplica la fórmula de tamaño muestral para variables cualitativas en poblaciones finitas.

$$n = \frac{Z^2 pq}{Z^2 pq + (N-1) e^2}$$

Donde:

- N: Numero de pollos vendidos en Lima Metropolitana y Callao (MINAGRI, 2020)
- Z: Nivel de confianza (95%)
- p: proporción estimada (0.975) (Anampa *et al.*, 2020)
- q: complemento de p (1-p) (0.025)
- e: error máximo permisible (0.03)

$$\frac{(312\ 794.1) \times (1.96)^2 \times (0.975) \times (0.025)}{(312\ 794.1 - 1) \times (0.03)^2 + (1.96)^2 \times (0.975) \times (0.025)} = 104.009$$

Según esta fórmula, el número de muestras a considerar sería 104; sin embargo, consideraremos 120 muestras para incrementar la variabilidad de los resultados. Las muestras serán adquiridas considerando 3 marcas comerciales: Marca 1 (S1), Marca 2 (S2) y Marca 3 (S3); siendo divididas en forma proporcional (n=40). Cabe acotar que 2 marcas fueron propias de avícolas y 1 de supermercado.

3.2 Obtención y procesamiento de muestras

Se obtuvo como muestra, cortes frescos de pierna con encuentro de tres marcas comerciales (S1, S2 y S3) las cuales eran vendidas con empaque (bandeja de polietileno tereftalato “PET” y envoltura transparente de polietileno) en diferentes supermercados de Lima Sur ubicados en los distritos de Santiago de Surco (n=40, de la marca S1), San Borja (n=40, de la marca S3), Surquillo (n=20, de la marca S2) y La Molina (n=20, de la marca S2). Para la marca S2 se tuvo que coleccionar de un supermercado de otro distrito debido a que el supermercado no contaba con este tipo de corte al momento del muestreo. Se verificó que los empaques no estén dañados, rotos o rasgados. Las muestras se trasladaron en cajas isotérmicas con refrigerante “ice pack” a una temperatura de 4 a 8°C al Laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para procesamiento posterior.

Cada empaque recolectado se procesó en una superficie y con instrumentales (pinza plana y mango de bisturí) previamente esterilizados. Para esto se retiró la piel y se tomaron muestras (5g aproximadamente) de cinco puntos diferentes de la porción muscular del corte. De esta forma se formó un pool de la cual se obtuvo 10g de carne que fue la cantidad de muestra a evaluar (Figura 1) de acuerdo con la norma ISO 10272-1: 2017.



A) Presentación del producto: Corte fresco de pierna con encuentro procedente de supermercados.



B) Verificación de la integridad del empaque.



C) Retiro del empaque y de la piel del corte.



D) Corte de carne para preparación de pollo.



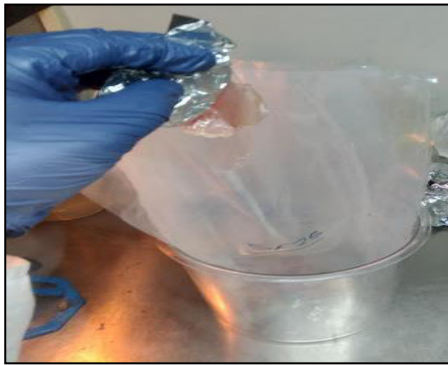
E) Pesaje de 10g de carne.

Figura 1. Pasos para la obtención de la muestra de carne de pollo que será sometida a evaluación

3.3 Aislamiento microbiológico de *Campylobacter* spp.

3.3.1 Pre – enriquecimiento

Las muestras obtenidas de 10g de carne se colocaron en bolsas de plástico estéril, debidamente etiquetadas en donde se les añadió 90 ml de caldo Preston con 5% de sangre de oveja desfibrinada obteniéndose una relación 1/10 por cada muestra. Las bolsas fueron puestas en una jarra de anaerobiosis de 2.5 L (Oxoid®, UK) con sobres de microaerofilia (Campygen, Oxoid®, UK) (Figura 2) para luego llevarse a la estufa (Memmert, Alemania) para incubarlas por 24 horas a 42°C (ISO, 2017).



A) Colocación de muestra de pollo en bolsas estériles de primer uso.



B) Adición de 90 ml de caldo Preston



C) Colocación de bolsas en jarra de anaerobiosis con pack de microaerofilia para su posterior incubación en la estufa por 24h a 42°C.

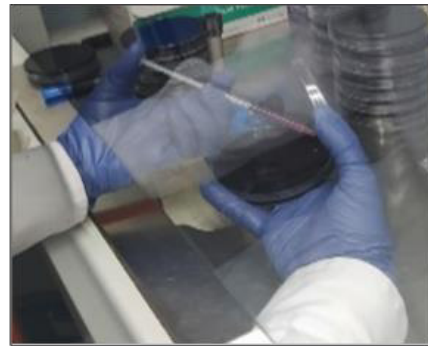
Figura 2. Pasos para el pre - enriquecimiento previo de las muestras

3.3.2 Siembra en medio selectivo

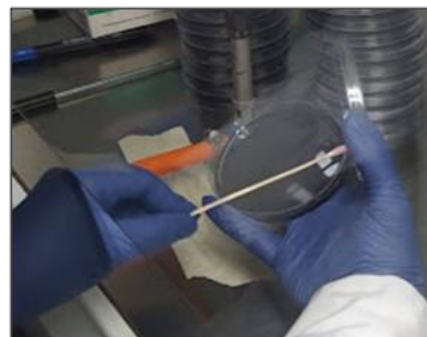
Las bolsas de pre-enriquecimiento fueron homogenizadas para seguidamente recolectarse 100 μ l de solución para sembrarla en agar Desoxicolato-Cefoperazona-Carbón modificado (mCCD) (Thermo Scientific™ Oxoid™, UK). Mediante el empleo de hisopo de madera estéril y con punta de algodón, la siembra obtenida fue esparcida hasta la mitad de la placa petri para después realizarse estría por agotamiento en la otra mitad, con el objetivo de obtener crecimiento grupal y colonias aisladas (ISO, 2017). Las placas se colocaron en jarras de anaerobiosis (Thermo Scientific™ OXOID™) con pack de microaerofilia (Thermo Scientific™ Oxoid, UK) para luego llevarse a la estufa (Memmert, Alemania) por 48 horas a 42°C (Figura 3).



A) Obtención de 0.1ml de solución mediante el empleo de aguja de tuberculina



B) Colocación de solución en agar mCCDA



C) Se esparce la solución mediante el empleo de hisopo estéril.



D) Las placas fueron colocadas en anaerójara con packs de microaerofilia para ser llevada a estufa a 42°C durante 24h.

Figura 3. Pasos para la siembra en agar mCCD

3.4 Confirmación microbiológica, morfológica y bioquímica

3.4.1 Siembra en medio no selectivo

Para confirmar colonias sospechosas de *Campylobacter* spp. se extrajo 4 a 5 colonias diluidas en suero fisiológico y se procedió a realizar la siembra en agar sangre (Base de agar N°2, Liofilchem®, Italia) con sangre de oveja desfibrinada al 5% para después ser llevadas a la estufa (Memmert, Alemania) a 42.5°C en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas. El procedimiento de siembra fue similar al realizado en el agar mCCD.

3.4.2 Evaluación macroscópica y microscópica

Se realizó la evaluación macroscópica de las colonias de *Campylobacter* spp. en agar mCCD las cuales se caracterizan por presentar un crecimiento a manera de “gotas de rocío”. De estas placas fueron seleccionadas algunas colonias para evaluar la motilidad y morfología. Para ello en una lámina portaobjeto se puso una gota de agua destilada y mediante el empleo de un asa bacteriológica, se extrajo una colonia y se realizó la mezcla con el agua destilada hasta buscar una solución homogénea, seguidamente se superpuso con una lámina cubreobjeto y se llevó al microscopio (Leika, UK) para su análisis respectivo a un aumento de 100X. La motilidad semejante a la de un “saca corchos” y su morfología de aspecto bacilar o helicoidal fueron considerados compatibles con *Campylobacter* spp. Por otro lado, las colonias aisladas en agar sangre se procedió a realizar la tinción Gram mediante el empleo de un microscopio óptico (Leika, UK). Para esto se añadió una gota de agua destilada en una lámina portaobjeto y con el uso de un asa bacteriológica, se obtuvo una colonia y se realizó la mezcla con la gota de agua destilada hasta obtener una solución homogénea, luego mediante movimientos circulares fijamos la lámina con el mechero hasta observarla visiblemente seca y fijada. Por 1 minuto se agregó cristal violeta, se enjuagó con agua, se agregó Lugol por 1 minuto, se enjuagó con agua, se agregó 3 gotas de alcohol, se enjuagó con agua y por último se agregó fucsina por 30

segundos para luego enjuagar y secar. La presencia de bacterias Gram negativas, con aspecto bacilar o helicoidal fueron consideradas compatibles con *Campylobacter* spp. (Anampa, 2020).

3.4.3 Evaluación bioquímica

Se realizaron tres pruebas: oxidasa, catalasa e hipurato. Para la prueba de oxidasa se utilizó una tira reactiva (Liofilchem, Italia) a la cual se colocó un grupo de colonias y se froto mediante el empleo de un asa bacteriológica para esparcir la muestra. La interpretación de resultados se realizó entre los siguientes 10 a 30 segundos. Las cepas compatibles con *Campylobacter* spp. reaccionan positivamente al evidenciar un color azul-púrpura en las tiras. Para la prueba de catalasa se colocó una gota del reactivo peróxido de hidrogeno y se depositó una colonia de agar sangre. La interpretación de resultados se realizó entre los siguientes 10 a 20 segundos, siendo consideradas como positivas las cepas que formar burbujas.

La finalidad de la prueba de hipurato es distinguir *C.jejuni* de otras especies de *Campylobacter* spp. los materiales empleados pertenecen al kit rápido de identificación (Liofilchem®, Italia). En un tubo de ensayo previamente esterilizado con 0.2 ml de solución fisiológica, se colocó 3 a 4 colonias hasta obtener una turbidez adecuada. Seguidamente, se añadió un disco de hipurato, se cerró y se incubó a 37°C durante 2 horas. Pasado las 2 horas, se añadió el reactivo de ninhidrina al 7% para nuevamente incubarlo por 20 minutos a 37°C. Cada 10 minutos se evaluó el cambio de color, el violeta o azul intenso indicaban muestras positivas, cualquier otro cambio de coloración o tonalidades más leves fueron considerados muestras negativas para *Campylobacter jejuni*. (Anampa, 2020).

3.5 Confirmación Molecular

3.5.1 Extracción de DNA

El proceso de extracción de DNA se realizó acorde a las especificaciones otorgadas por el fabricante del kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen). Para esto tubos con colonias suspendidas en agua destilada fueron centrifugadas a 10,000 RPM por 5 minutos para luego eliminarse el sobrenadante. Seguidamente se resuspendió el pellet en 180 μ L Purelink Genomic Digestion Buffer y se añadió 20 μ L de Proteinase K para lisar todas las células, luego se llevó a vórtex para homogenizar bien.

Seguidamente se adiciono 20 μ L de RNase A para el lisado, se homogenizó por 30 segundos y se incubó a temperatura ambiente por 2 minutos. Luego se adicionó 200 μ L Purelink Genomic Lysis / Binding Buffer y se mezcló hasta obtener una solución homogénea, se añadió 200 μ L etanol de 96% o absoluto para la lisis para nuevamente ser llevada a vórtex por 5 segundos o hasta obtener una solución homogénea (Figura 4).



A) Adición de 180 μ l Purelink Genomic Digestión Buffer



B) Adición de 20 μ l de Proteinase K



C) Colocación en vórtex por 30 segundos para homogenizar bien la mezcla



D) Adición de 20 μ l de RNase A

Figura 4. Pasos para la extracción de DNA

Para la unión del ADN con la columna (Binding DNA) se removió los tubos con las columnas de su bolsa para adicionar la solución de lisado (aprox 640 μ L) dentro de la columna y centrifugar a 10,000 x *RPM* por 1 minuto a temperatura ambiente. Luego se descartó el tubo de colección y se reintrodujo la columna dentro de un nuevo tubo de colección limpio suplementado por el kit.

Para el lavado del ADN se añadió 500 μ L de Wash buffer 1 dentro de la columna para luego centrifugar la columna a temperatura ambiente a 10,000 x RPM por 1 minuto. Luego, se descartó el tubo y se reintrodujo la columna en un nuevo tubo de colección. Se adiciono 500 μ L de Wash buffer 2 dentro de la columna para luego ser centrifugado a 14,000 RPM por 3 minutos a temperatura ambiente. Luego se descartó el tubo de colección.

Con respecto a la elución del ADN, la columna fue introducida en un tubo de microcentrífuga esteril de 1.5 ml donde se añadió 80 μ L de Purelink Genomic Elución Buffer, se incubo a temperatura ambiente por 1 minuto para luego ser centrifugada a 14,000 RPM por 1 minuto. La columna fue retirada y descartada quedando solo el tubo de microcentrífuga con el ADN listo. Por último, se guardó el ADN a -20°C hasta el momento en que se proceda a utilizar (Figura 5).



A) Adición de 500 ul de Wash Buffer 1

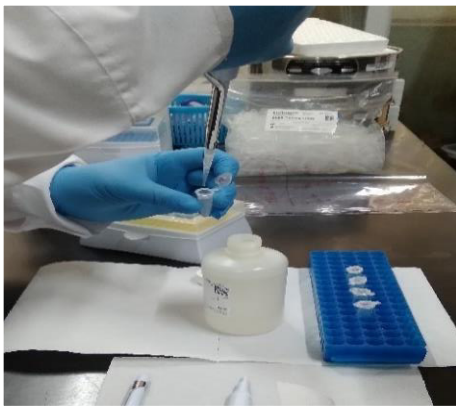


B) Adición de 500 ul de Wash Buffer 2

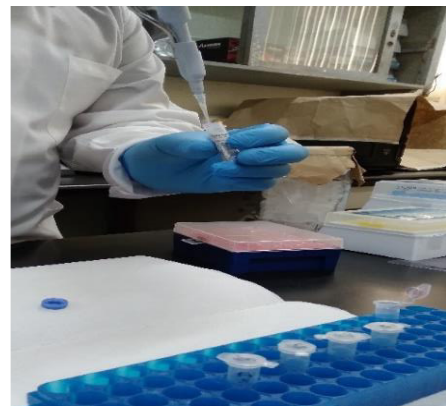
Figura 5. Pasos para la elución del DNA

3.5.2 Cuantificación de DNA

Para el proceso de cuantificación del DNA se empleó un fluorímetro (Qubit4, Invitrogen) y un kit de cuantificación de DNA (Qubit ds DNA HS Assay kit, Invitrogen). Para esto se preparó la solución de trabajo la cual estará compuesta por “n” uL de Qubit reagent con “199n” uL de Qubit buffer a temperatura ambiente, siendo “n” el número de muestras que serán procesadas más los estándares control. Después se preparó viales con los estándares (Final Qubit tube) el cual contendrá 190 uL de la solución de trabajo con 10 uL de los estándares suplementados por el kit. Luego se preparó los microtubos de centrifuga para la cuantificación el cual contendrá un volumen final de 200 uL el cual estará compuesto por 2 uL de material genético y 198 uL de la solución de trabajo, por último, se llevó a vórtex durante 3 segundos y se dejó incubar durante 2 minutos a temperatura ambiente. Después de procedió a configurar el fluorímetro para la lectura con los estándares para delimitar el rango de DNA presente en las muestras (Figura 6).



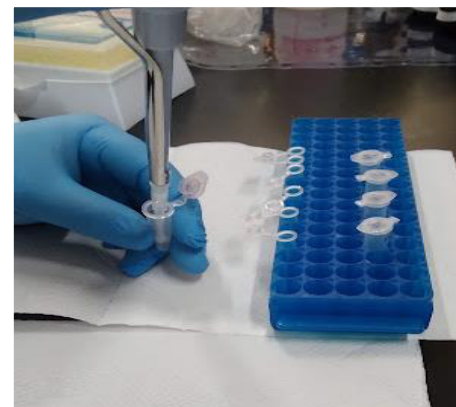
A) Adición de Qubit buffer



B) Adición de Qubit reagent



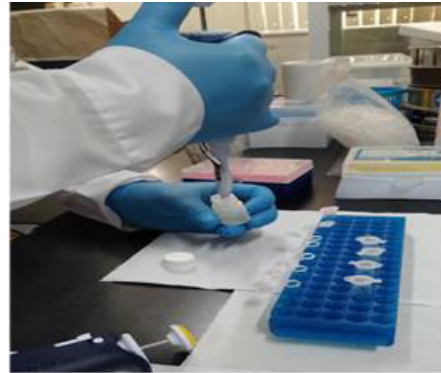
C) Solución de trabajo



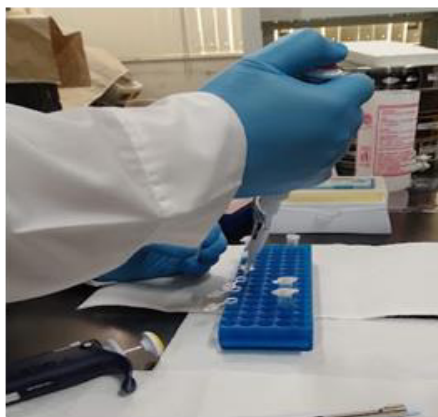
D) Preparación de viales con los estándares mediante la adición de 190ul de solución trabajo



E) Qubit Standard #1 – Qubit standard #2



F) Adición del Qubit standard a los viales



G) Adición del material genético a los viales con los estándares



H) Lectura en el equipo Qubit4 Fluorometer

Figura 6. Pasos para la cuantificación de DNA

3.5.3 Identificación de especies por PCR

Para la identificación de especie mediante PCR múltiple se empleó los cebadores hipO-F y hipO-R (GAA GAG GGT TTG GGT G – AGCTAGCTTCGCATAATAACTTG) para *Campylobacter jejuni* (735 pb) y los cebadores GlyA-F y GlyA-R (CATATTGTAAAACCAAAGCTTATCG – AGTCCAGCAATGTGTGCAATG) para *Campylobacter coli* (133 pb) (Linton *et al.*, 1997). Se utilizó 5 μ L de DNA de cada muestra a una concentración de 15-00 ng/ μ L con 20 μ L de mix de PCR: 6,5 μ L de agua libre de nucleasas;

12,5 µL de mezcla maestra para PCR a 2X (GoTaq®G2 Green Máster Mix, Promega) y 0,25 µL del cebador GlyA-F (20 µM); 0,25 µL del cebador GlyA-R (20 µM), 0,25 µL del primers hipO-F (20 µM) y 0,25 µL del cebador hipO-R (20 µM).

Una vez completada la mezcla, esta fue llevada a un termociclador (T100™ Thermal Cycler, BIO-RAD) bajo el siguiente ciclo térmico: 95°C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos compuesto por 1 minuto a 94°C, 56°C por 1 minuto, 72°C por 2 minutos y un paso de extensión a 72°C por 10 minutos e incubación a 4°C. Para especie, se incluirá un control negativo en el que se colocará agua estéril en el lugar del DNA y, un control positivo mediante el empleo de cepas control *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 y *Campylobacter coli* ATCC 33559.

El producto de PCR se analizó mediante electroforesis (BIORAD, PowerPac™ Basic) en gel de agarosa al 1,2% en tampón TBE 0.5X y bromuro de etidio (Promega; Madison, WI USA) con el objetivo de analizar las bandas de DNA. Los geles se dejaron correr en una placa de electroforesis a 100V por 60 minutos y fueron visualizados mediante un transiluminador (Major Science®) con luz UV. El tamaño de los productos se confirmó con el marcador molecular GenRuler 100pb (PROMEGA; Madison, WI USA).

3.6 Evaluación de sensibilidad antimicrobiana

Para la evaluación de la sensibilidad antibiótica se realizó la prueba de Kirby-Bauer según las indicaciones de CLSI (2015). Para ello se preparó una solución de McFarland 0.5 usando las colonias aisladas en placa de agar sangre compatibles con *Campylobacter* spp. para inmediatamente ser sembradas en placa con agar Mueller Hinton (Conda, España) al 5% sangre de ovino mediante el empleo de un hisopo estéril. Seguidamente, se colocaron los discos de antibióticos de azitromicina (15 µg), eritromicina (15 µg), ciprofloxacino (5 µg) y tetraciclina (30 µg) (Oxoid®, UK) para luego ser llevado a la estufa (Memmert, Alemania) a 42°C durante 24 horas.

Posterior a la incubación, se procedió a la evaluación de la sensibilidad antibiótica a través de la medición de los diámetros de los halos de inhibición en caso de estar presentes, mediante el empleo de una regla de 30 cm. Los criterios de sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) fueron en base a los diámetros encontrados. Con respecto a los macrólidos (azitromicina y eritromicina) fueron $S \geq 16\text{mm}$, $I = 13 - 15\text{mm}$ y $R \leq 12\text{mm}$; para la fluoroquinolona (Ciprofloxacina) fueron $S \geq 24\text{mm}$, $I = 21 - 23\text{mm}$ y $R \leq 20\text{mm}$; mientras que para la tetraciclina fue $S \geq 26\text{mm}$, $I = 23 - 25\text{mm}$ y $R \leq 22\text{mm}$ (CLSI, 2015). Cabe acotar que, en el presente estudio, las cepas con clasificación “Intermedia” fueron consideradas como no sensibles o resistentes (Paravisi *et al.*, 2020).

Adicionalmente se evaluó el índice de resistencia a múltiples antibióticos (IRMA) el cual relaciona a/b; donde “a” es el número de antibióticos a las que una cepa es resistente y “b” es el número total de antibióticos evaluados por cada cepa. Valores IRMA superiores a 0.2 indican que la bacteria proviene de un ambiente de alto riesgo, donde se ha sobre utilizado los antibióticos (Shakir *et al.*, 2021). Asimismo, la designación de cepa multidrogo-resistente fue conferida a bacterias que presentaron resistencia a los 3 grupos de antibióticos usados en este experimento (EFSA/ECDC, 2022).

3.7 Cepas control

Para la realización de pruebas se empleó las cepas control *Campylobacter coli* ATCC 33559 y *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 en formato de hisopo Kwik – Stick™. Según las indicaciones del fabricante, ambas cepas fueron reactivadas en agar sangre (5%) en ambiente microaerófilo durante 48h a 37°C. Las cepas control conservadas y revividas en agar sangre y colocadas en caldo BHI (Merck) fueron resembradas en agar sangre semanalmente para su disposición. Las cepas control fueron empleadas para realizar el monitoreo de la calidad de los medios (Preston, agar mCCD, Sangre y Müller Hinton) y pruebas empleadas (Prueba

bioquímica: Catalasa, Oxidasa, Hipurato; Molecular: PCR para la identificación de género y especie; sensibilidad antibiótica).

3.8 Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se empleó la estadística descriptiva. Para cada muestra obtenida de carne de pollo (corte pierna con encuentro) empaquetada y refrigerada, se analizó la presencia o no de *Campylobacter* spp. El porcentaje de muestras positivas se obtuvo mediante la relación entre la cantidad de muestras positivas y confirmadas por PCR con respecto al total de muestras evaluadas. Los porcentajes de *C. coli* y *C. jejuni* de cada marca comercial fueron evaluadas por la prueba de Chi cuadrado. Para hallar la frecuencia de resistencia para cada antibiótico se obtuvo como la relación entre el número de muestras que fueron resistentes a cada antibiótico frente al número total de muestras evaluadas en el estudio.

IV. RESULTADOS

4.1 Identificación de *Campylobacter* spp.

Luego del pre-enriquecimiento con caldo Preston al 5% de sangre desfibrinada de ovino y el cultivo en medio específico mCCDA se observó el crecimiento de colonias compatibles con *Campylobacter* spp. en el 46.6% (56/120) del total de muestras evaluadas. Estas colonias presentaron una coloración gris, de borde irregular y con un crecimiento a manera de “gotas de rocío” siendo estos hallazgos característicos a *Campylobacter* spp. tal como se puede ver en la Figura 7.

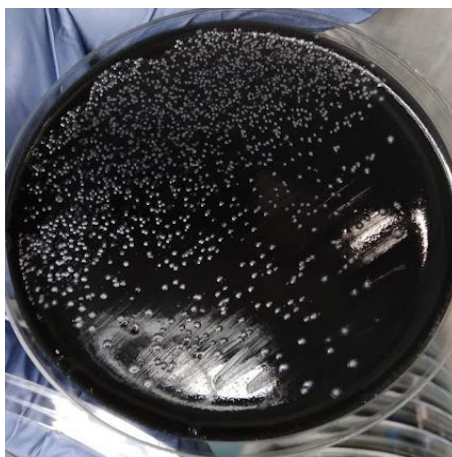


Figura 7. Crecimiento de colonias compatibles de *Campylobacter* spp. en agar mCCD. Obsérvese la presencia de colonias de coloración grisácea de borde irregular, con un crecimiento a manera de "gotas de rocío"

Asimismo, se procedió a la evaluación macroscópica de las colonias que mostraron crecimiento en agar sangre observándose que el 100% (56/56) presentaron características similares a las encontradas en el agar mCCD, colonias grisáceas y con un crecimiento a manera de “gotas de rocío”, las muestras que evidenciaron crecimiento en agar sangre fueron las que continuaron en el presente estudio tal como puede verse en la Figura 8.

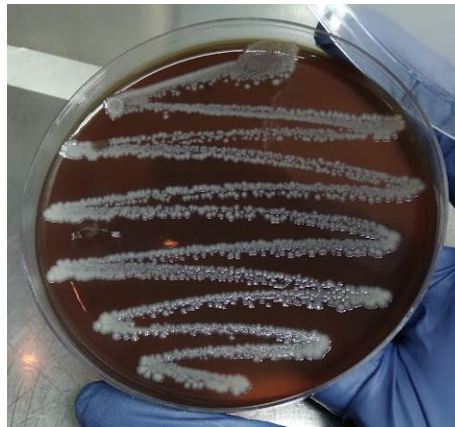


Figura 8. Crecimiento de colonias compatibles de *Campylobacter* spp. en agar Sangre. Obsérvese las colonias de coloración grisácea y de bordes irregulares, características similares a las observadas en el agar mCCD.

El análisis de la morfología bacteriana a nivel microscópico mediante el empleo de tinción Gram (Figura 9) permitió observar la presencia de bacterias Gram negativas, con forma en espiral, ya sea en forma de “S” o “ala de gaviota” (Flecha azul), así como de bacilos cortos (flecha negra) en el 100% (56/56) de las muestras obtenidas del medio no selectivo (agar sangre). Asimismo, se evaluó la motilidad mediante la realización de un extendido de las colonias en una lámina portaobjetos, observándose bacterias con un movimiento semejante a la de un “sacacorchos” el cual es compatible a *Campylobacter* spp.



Figura 9. Prueba de tinción gram para la identificación microscópica de *Campylobacter* spp. Se observa la presencia de bacterias gram negativas ya sea en forma de "coma" o "ala de gaviota" (flecha azul), así como bacterias bacilares cortas (flecha negra).

Asimismo, como parte del protocolo para la confirmación microbiológica, se tomaron colonias aisladas sugestivas a *Campylobacter* spp. del agar mCCD para la realización de las pruebas bioquímicas de catalasa y oxidasa observándose la positividad para ambas pruebas en el 100% (56/56) de las muestras, tal como puede observarse en la Figura 10.

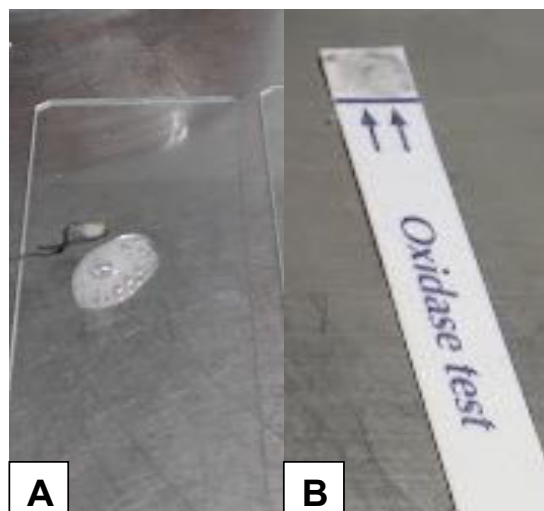


Figura 10. Prueba de catalasa y oxidasa. Imagen A: Prueba de catalasa positiva, obsérvese el desprendimiento de burbujas. Imagen B: Prueba de oxidasa positiva: Obsérvese el cambio de coloración a azul-purpura en la tira de oxidasa.

Como se mencionó anteriormente, de las 120 muestras de carne de pollo obtenidas de los supermercados, el 46.6% (56/120) fueron aisladas de manera presuntiva a *Campylobacter* spp por microbiología y métodos bioquímicos. Del total de cepas aisladas el 7% (4/56) fueron positivas a la prueba de hidrolisis del hipurato siendo esto considerado como un indicador de que se tratan de cepas de *Campylobacter jejuni*. El 93% (52/56) de las cepas restantes fueron negativas a esta prueba siendo clasificadas como posibles *Campylobacter jejuni* (Figura 11).

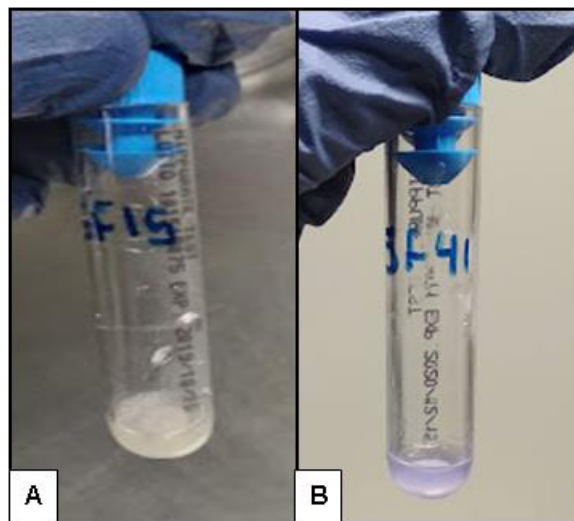


Figura 11. Prueba de hidrolisis del hipurato. A: Reacción negativa a la prueba debido al no cambio de coloración. B: Reacción positiva a la prueba de hidrolisis del hipurato, obsérvese el cambio de coloración a violeta intenso, resultado sugestivo a *C. jejuni*.

Como puede observarse, de las 120 muestras procesadas, se pudo aislar *Campylobacter* spp. en el 46.6% (56) del total de muestras en agar mCCD, siendo 29, 24 y 3 aislamientos correspondientes a las marcas S1, S2 y S3, respectivamente. Así mismo, como parte de la confirmación microbiológica, todas las cepas aisladas previamente en agar mCCD también presentaron crecimiento en agar sangre. Con respecto a las pruebas bioquímicas, el 100% de las cepas aisladas (56/56) fueron positivas tanto para la prueba de catalasa como oxidasa. Sin embargo, con respecto a la prueba del hipurato, solo el 4% (04/56) fueron positivas a esta prueba siendo compatibles con *Campylobacter jejuni*, tal como puede observarse en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Resultados del aislamiento microbiológico y evaluación bioquímica de cepas aisladas de carne de pollo de supermercados en base a la marca comercial colectada.

| Código de marca (#Muestras) | Aislamiento* | | Confirmación microbiológica y Bioquímica** | | |
|--------------------------------|--------------|-------------|--|-----------|----------|
| | Agar mCCD | Agar Sangre | Catalasa | Oxidasa | Hipurato |
| S1 (n=40) | 29 (72.5%) | 29 (100%) | 29 (100%) | 29 (100%) | 02 (7%) |
| S2 (n=40) | 24 (60%) | 24 (100%) | 24 (100%) | 24 (100%) | 02 (8%) |
| S3 (n=40) | 03 (7.5%) | 03 (100%) | 03 (100%) | 03 (100%) | 0 (0%) |
| Total (n=120) | 56 (46.6%) | 56 (100%) | 56 (100%) | 56 (100%) | 4 (7%) |

* Características macroscópicas y microscópicas de las colonias compatibles con *Campylobacter* spp.

** Reacción positiva en catalasa y oxidasa sugiere que la cepa corresponde a *Campylobacter* spp. Reacción positiva en hipurato sugiere que la cepa corresponde a *C.jejuni*

Con respecto a la distribución de muestras positivas por distritos, en Santiago de Surco se pudo observar que, de las 40 muestras procesadas, *Campylobacter* spp. fue aislado en agar mCCD solo en el 7.5% (03/40) del total de muestras mientras que San Borja, La Molina y Surquillo presentaron porcentajes de aislamiento del 60% (24/40), 70% (14/20) y 75% (15/20), respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados del aislamiento microbiológico y evaluación bioquímica de cepas aisladas de carne de pollo de en base a los cuatro distritos de Lima Sur.

| Distrito (#Muestras) | Aislamiento* | | Confirmación microbiológica y Bioquímica** | | |
|---------------------------|--------------|-------------|--|-----------|-----------|
| | Agar mCCD | Agar Sangre | Catalasa | Oxidasa | Hipurato |
| Surquillo (20) | 15 (75%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 01 (6.7%) |
| La Molina (20) | 14 (70%) | 14 (100%) | 14 (100%) | 14 (100%) | 01 (7%) |
| San Borja (40) | 24 (60%) | 24 (100%) | 24 (100%) | 24 (100%) | 02 (8%) |
| Santiago de Surco (40) | 03 (7.5%) | 03 (100%) | 03 (100%) | 03 (100%) | 0 (0%) |
| Total (n=120) | 56 (46.6%) | 56 (100%) | 56 (100%) | 56 (100%) | 4 (7%) |

* Características macroscópicas y microscópicas de las colonias compatibles con *Campylobacter* spp.

** Reacción positiva en catalasa y oxidasa sugiere que la cepa corresponde a *Campylobacter* spp. Reacción positiva en hipurato sugiere que la cepa corresponde a *C.jejuni*.

4.2 Confirmación molecular

El posterior análisis por PCR permitió la identificación de especie en las 56 cepas aisladas previamente, observándose que el 92.8% (52/56) fueron confirmadas como *Campylobacter coli* y el 7.2% (4/56) como *Campylobacter jejuni*. Con respecto a su distribución por marca comercial, se determinó que la marca S1 presentó 27 cepas confirmadas de *Campylobacter coli* y 2 como *Campylobacter jejuni*. La marca S2, 22 cepas fueron *Campylobacter coli* y, 2 *Campylobacter jejuni*. Mientras que la marca S3, las 3 cepas fueron confirmadas como *Campylobacter coli* tal como se observa en el cuadro 3. En las marcas S1 y S2 se puede apreciar una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los porcentajes de *C. jejuni* y *C. coli*, a diferencia de la marca S3 donde el porcentaje fue bajo para *C. coli*. y no se tuvo positivos para *C. jejuni*, tal como puede observarse en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de la confirmación molecular de especies patógenas de *Campylobacter* spp. de cepas aisladas de carne de pollo en base a la marca comercial colectada de supermercados de Lima Sur

| | S1 (n=40) | | | S2 (n=40) | | | S3 (n=40) | | | TOTAL (n=120) |
|------------------|-----------|------------|---------|-----------|------------|---------|-----------|------------|---------|------------------|
| | Positivo | Porcentaje | P value | Positivo | Porcentaje | P value | Positivo | Porcentaje | P value | |
| <i>C. coli</i> | 27 | 67.50% | <0.0001 | 22 | 55% | <0.0001 | 3 | 7.50% | 0.2405 | 52 |
| <i>C. jejuni</i> | 2 | 5% | | 2 | 5% | | -- | -- | | 4 |
| <i>Total*</i> | 29 | 72.50% | | 24 | 60% | | 3 | 7.50% | | 56 |

* *Total: C. coli + C. jejuni*

Así mismo, con respecto a su distribución por distrito, se observó que el distrito de Suquillo presentó 15 cepas confirmadas molecularmente como *C. coli*. La Molina presento 12 y 2 cepas confirmadas como *C. coli* y *C. jejuni*, respectivamente. Para el caso de San Borja, 22

cepas fueron *C.coli* y 2 *C.jejuni*. Mientras que, para el distrito de Santiago de Surco, las 3 cepas fueron confirmadas como *C. jejuni* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados de la confirmación molecular de especies patógenas de *Campylobacter* spp. de cepas aisladas de carne de pollo en base a los cuatro distritos de Lima Sur

| | Surquillo (n=20) | | La Molina (n=20) | | San Borja (n=40) | | Santiago de Surco (n=40) | | TOTAL (n=120) |
|------------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|--------------------------|------------|---------------|
| | Positivo | Porcentaje | Positivo | Porcentaje | Positivo | Porcentaje | Positivo | Porcentaje | |
| <i>C. coli</i> | 15 | 75.00% | 12 | 60% | 22 | 55% | 3 | 7.50% | 52 |
| <i>C. jejuni</i> | | | 2 | 10% | 2 | 5% | -- | -- | 4 |
| <i>Total*</i> | 15 | 75.00% | 14 | 70% | 24 | 60% | 3 | 7.50% | 56 |

* *Total: C. coli + C. jejuni*

Sin embargo, cabe mencionar que de las muestras de la marca S1 en 2 cepas se observaron resultados contrarios a los vistos por la prueba del hipurato, donde una de ellas salió positiva a *Campylobacter jejuni*, pero fue confirmada como *Campylobacter coli* mediante PCR. La segunda cepa observada fue negativa a la prueba del hipurato siendo descartada como *Campylobacter jejuni*, pero confirmada como la misma por PCR.

4.3 Resultados de evaluación de resistencia antimicrobiana

El análisis de la resistencia antimicrobiana en los 56 aislados de *Campylobacter* spp. para los antibióticos eritromicina (15 µg), azitromicina (15 µg), ciprofloxacino (5 µg) y tetraciclina (30 µg) indicaron que el 100% (56/56) de las cepas presentaron resistencia a la tetraciclina (Figura 12), siendo 52 cepas identificadas como *Campylobacter coli* y 4 como *Campylobacter jejuni*. Con respecto a los macrólidos, un 94.6% (53/56) del total de cepas evidenciaron resistencia a eritromicina, donde 49 cepas fueron *Campylobacter coli* y 4

Campylobacter jejuni, mientras que, para la azitromicina, el 58.9% (33/56) de aislados presentaron resistencia, siendo todas identificadas como *C. coli*. Por otro lado, para la fluoroquinolona, se observó que un 84% (47/56) de la totalidad de cepas presentaron resistencia a ciprofloxacina, siendo 44 cepas identificadas como *C. coli* y 3 como *C. jejuni* (Figura 13). Asimismo, en nuestro estudio se pudo observar que el 23.2% (13/56) de cepas aisladas presentaron clasificación “Intermedia” a azitromicina y a ciprofloxacino según las indicaciones del CLSI (2015); sin embargo, como se indicó en la metodología, las cepas “Intermedias” fueron consideradas como resistentes o no sensibles en este estudio.



Figura 12. Prueba de resistencia antimicrobiana "Kirby bauer" en agar Müller Hinton sangre al 5% usando discos de azitromicina (15 µg), eritromicina (15 µg), ciprofloxacino (5µg) y tetraciclina (30µg). Muestra de la marca S3, se observa el crecimiento de colonias alrededor de los discos de tetraciclina (resistente) y ciprofloxacina (resistente) así como la formación de halos de inhibición de diferente tamaño en los discos de azitromicina (sensible) y eritromicina (sensible).

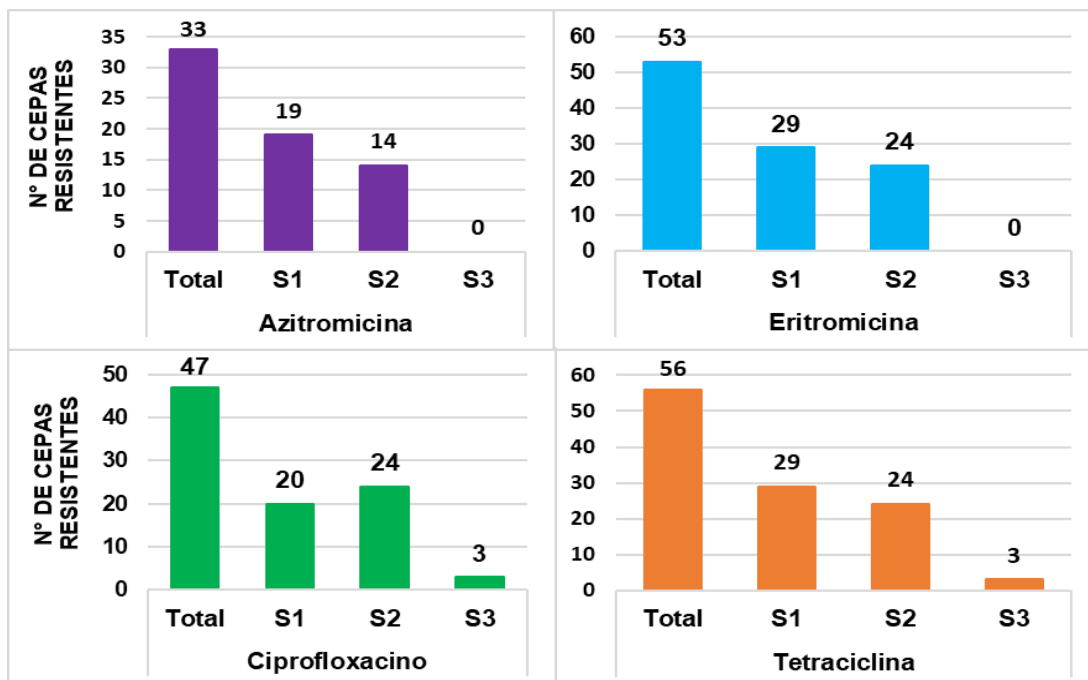


Figura 13. Número de cepas resistentes a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas para cada marca comercial evaluada (S1: Marca 1, S2: Marca 2, S3: Marca 3) en supermercados de Lima Sur.

Así mismo, con respecto a su distribución por distrito, azitromicina presentó un porcentaje de resistencia del 50% (10/20), 45% (09/20) y 35% (14/40) en los distritos de Surquillo, La Molina y San Borja, respectivamente. Eritromicina presentó porcentajes de resistencia del 75% (15/20), 70% (14/20) y 60% (24/40) en Surquillo, La Molina y San Borja, respectivamente. Para ciprofloxacino se halló una resistencia del 55% (11/20), 45% (09/20), 100% (24/24) y 100% (03/03) para los distritos de Surquillo, La Molina, San Borja y Santiago de Surco, respectivamente. Por último, con respecto a la tetraciclina, se observó que el 75% (15/20), 70% (14/20), 100% (24/24) y 100% (03/03) de cepas aisladas presentaron resistencia en los distritos de Surquillo, La Molina, San Borja y Santiago de Surco, respectivamente (Figura 14).

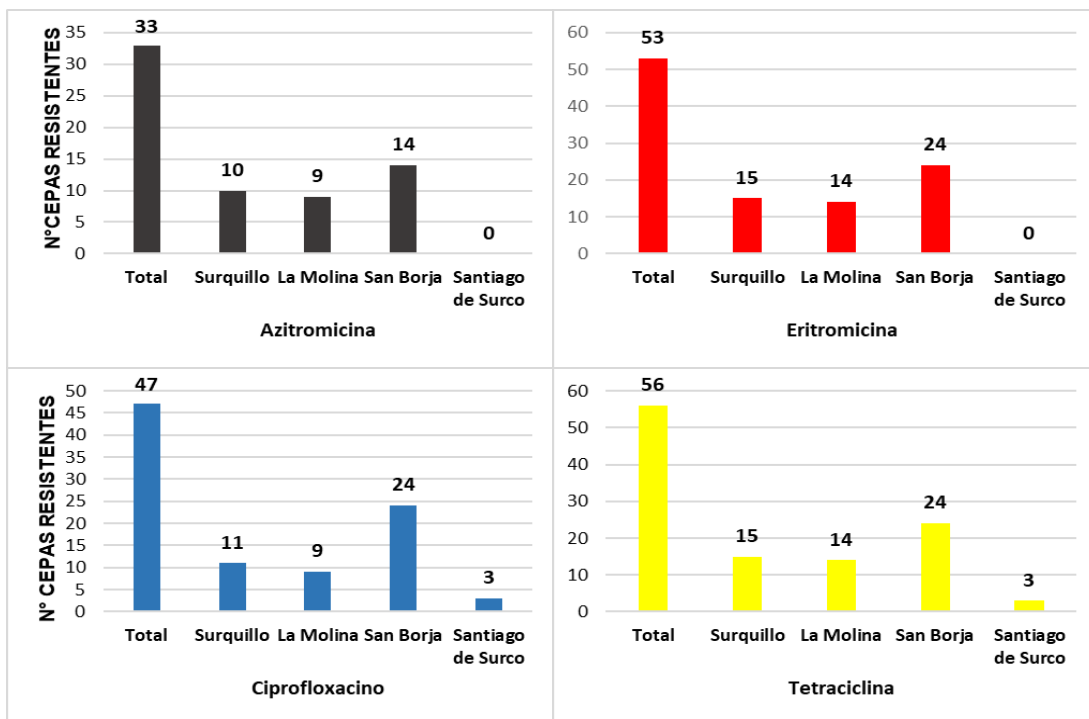


Figura 14. Número de cepas resistentes a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas para cada distrito en Lima Sur

De igual manera, se observó que el 51.8% (29/56) de las cepas aisladas presentaron resistencia a los 4 antibióticos empleados en el estudio siendo 15 aislados de la marca S1 y 14 aislados de la marca S2. El número de cepas aisladas resistentes a 3 antibióticos fue de 34% (19/56) siendo 9 aislados de la marca S1 y 10 aislados de la marca S2. Mientras que el 14.3% (08/56) evidencio resistencia a 2 antibióticos siendo 5 aislados de la marca S1 y 3 de la marca S3 (Figura 15); ninguna cepa aislada presentó resistencia fenotípica a un solo antibiótico.

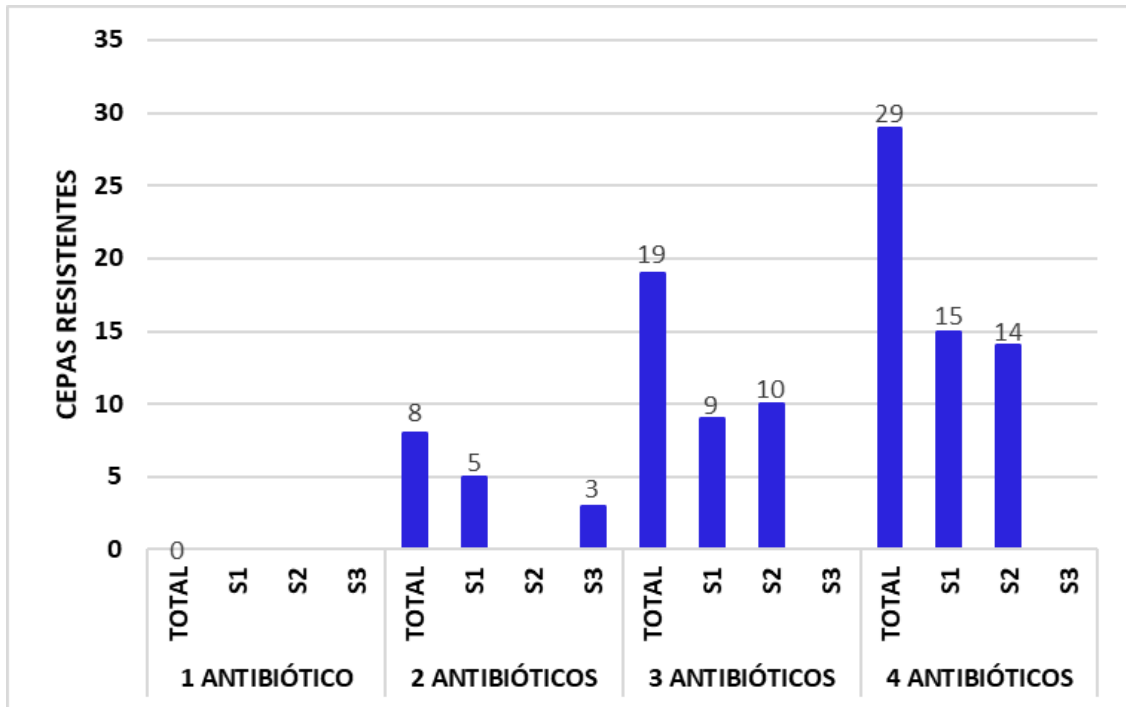


Figura 15. Cepas de *Campylobacter* spp. resistentes a 1,2,3 o 4 antibióticos para cada marca comercial evaluada (S1: Marca 1, S2: Marca 2, S3: Marca 3) en supermercados de Lima Sur

Así mismo, con respecto a su distribución por distrito, se observó que el 51.8% (29/56) de cepas aisladas presentaron a los 4 antibióticos evaluados en el estudio siendo 10, 5 y 14 aislados correspondientes a los distritos de Surquillo, La Molina y San Borja, respectivamente. Un 34% (19/56) de las cepas aisladas presentaron resistencia a 3 antibióticos los cuales 4, 5 y 10 cepas correspondieron a los distritos de Surquillo, La Molina y San Borja. Por último, un 14.3% (08/56) de cepas aisladas presentaron resistencia a 2 antibióticos siendo 1, 4 y 3 aislados correspondientes a los distritos de Surquillo, La Molina y Santiago de Surco, respectivamente (Figura 16).

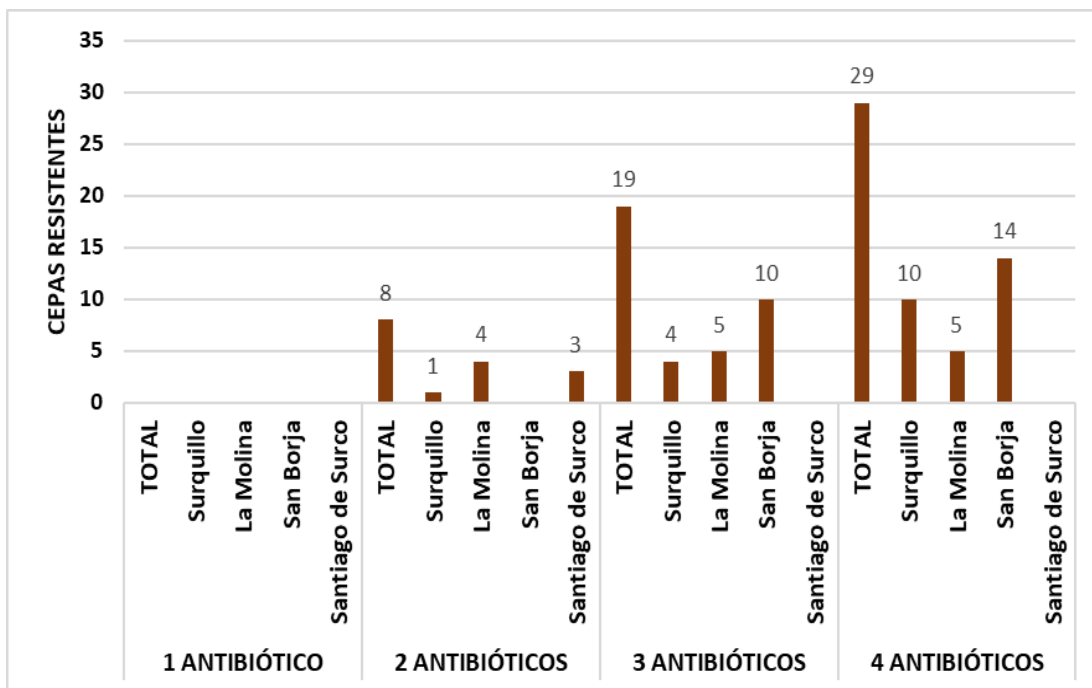


Figura 16. Cepas de *Campylobacter* spp. resistentes a 1,2,3 o 4 antibióticos por cada distrito de Lima Sur

Con respecto al IRMA, se pudo encontrar que 15, 9 y 5 muestras de la marca S1 tuvieron un IRMA de 1, 0.75 y 0.5 respectivamente. La marca S2 presentó un IRMA de 1 y 0.75 en 14 y 10 muestras, respectivamente, mientras que en las 3 muestras de la marca S3 fue de 0.5. Esto indica que el 100% de las cepas resistentes presentaron valores de IRMA superiores a 0.2 (Cuadro 5) Por otro lado, 78.6% (44/56) cepas mostraron resistencia a los tres grupos de antibióticos, siendo consideradas como multidrogo-resistentes, estas cepas fueron aisladas de las marcas S1 y S2.

Cuadro 5. Índice de resistencia a múltiples antibióticos (IRMA) de *Campylobacter* spp (n=56) aislado de carne de pollo comercializado en distritos de Lima Sur

| IRMA | # Antimicrobianos resistentes | Total | |
|------|-------------------------------|---------------------|-------|
| | | # Cepas resistentes | % |
| 0.5 | 2 | 8 | 14.30 |
| 0.75 | 3 | 19 | 33.90 |
| 1 | 4 | 29 | 51.80 |

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se observó que el porcentaje de muestras positivas a *Campylobacter* spp. en carne de pollo (corte pierna con encuentro) obtenidas de supermercados de Lima Sur fue del 46.6% (56/120). Nuestro resultado fue inferior a lo encontrado por Anampa *et al.* (2020) en donde se reportó que el 100% de las muestras de piel de pollo fresco obtenidas en mercados de la ciudad de Lima, fueron positivas a *Campylobacter* spp. Si bien en nuestro trabajo se puede ver que *Campylobacter* spp. está presente en casi un 50% de las muestras evaluadas, este valor debería ser inferior ya que las muestras fueron adquiridas en supermercados, con embalaje y comercializadas en temperaturas entre 0-4°C. Estos factores deberían asegurar que se reduzca el riesgo de contaminación durante el expendio.

Esta diferencia entre productos cárnicos de ave mantenidos con temperatura de refrigeración y los que son comercializados a temperatura ambiente han sido reportadas por (Mazeiro y Oliveira, 2011) quienes encontraron un mayor porcentaje (93.3%) de *Campylobacter* spp. en carne de pollo fresca a diferencia de carne de pollo refrigerada (53.3%) comercializadas en establecimientos de Brasil, este último resultado se aproxima a lo que se encontró en nuestro trabajo. Según De Melo *et al.* (2021), las temperaturas de refrigeración a la cual es sometida la carne de pollo durante el proceso de beneficio y la comercialización pueden reducir el recuento final de *Campylobacter* spp. a comparación de muestras comercializadas a temperatura ambiental.

Otro factor que podría influenciar la presencia de *Campylobacter* spp. en las carcasas de pollos de carne podría atribuirse al lugar de sacrificio (Mataderos de pequeña y gran escala, formales o informales, automatizados, semiautomatizados o manuales, etc.). El producto evaluado en este estudio (carne de pollo envasada y refrigerada) proviene de mataderos formales con instalaciones y medidas higiénicas adecuadas a diferencia de los mataderos clandestinos. Esto pudo observarse en un estudio realizado por (Alaboudi *et al.*, 2020) en donde encontraron que la incidencia de *Campylobacter* spp. fue mayor en mataderos informales (59.3%) a diferencia de mataderos tecnificados (35.6%) lo cual podría deberse a las medidas de higiene más estrictas e instalaciones refrigeradas practicadas en los mataderos formales, lo cual podría desempeñar un papel importante en el control de la contaminación cruzada de *Campylobacter* spp. en el matadero.

Con respecto a la identificación de especie, se observó que el 92.8% (52/56) y 7.2% (4/56) del total de cepas aisladas fueron confirmadas mediante PCR como *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni*, respectivamente. Estos resultados son contrarios a los reportados a nivel mundial, donde la presencia de *C.jejuni* constituye cerca del 90% del total de aislados en carne de pollo a comparación de *Campylobacter coli* (Sibanda *et al.*, 2018). Sin embargo, en varios países de Sudamérica ya se ha reportado una mayor presentación de *Campylobacter coli*. En Ecuador, Park (2020) encontró que el 68.4% de cepas aisladas fueron confirmadas como *Campylobacter coli* y 18.4% como *Campylobacter jejuni* en muestras de carne de pollo. En el Perú, estudios realizados por Lazaro *et al.* (2012) y Anampa *et al.* (2020) reportaron un 44% y 100% de cepas aisladas como *Campylobacter coli* en muestras de carne de pollo, respectivamente.

A pesar de que diversos estudios a nivel mundial reportan un mayor aislamiento de *Campylobacter jejuni* a comparación de *Campylobacter coli*, esta relación puede cambiar por el tipo de material muestreado, condiciones de almacenamiento y lugar de toma de muestra (De Melo *et al.*, 2021). Con respecto al lugar de toma de muestra, *Campylobacter jejuni* suele presentar una tasa de detección más alta que *Campylobacter coli* en granja. Sin embargo, durante el proceso de sacrificio ambos porcentajes pueden equilibrarse para después, durante el proceso de enfriamiento, *Campylobacter coli* pueda presentar un porcentaje mayor a comparación de *Campylobacter jejuni* (Sakaridis *et al.*, 2019). Tomando en cuenta que las muestras de pollo fueron obtenidas después del proceso de enfriamiento y posterior refrigeración, esto podría explicar el por qué una mayor proporción de aislados de *Campylobacter coli* a diferencia de *Campylobacter jejuni*.

Un hallazgo controversial en nuestro estudio fue la identificación de una muestra positiva a la prueba de hipurato lo cual indica que es compatible con *Campylobacter jejuni* pero que luego de la evaluación molecular resultó ser *Campylobacter coli*, de la misma forma otra muestra que salió negativa a esta misma prueba de hipurato luego resultó ser *Campylobacter jejuni*. Una posibilidad para explicar esto podría ser la presencia de ambas especies patógenas de *Campylobacter* en las muestras evaluadas. En el presente estudio, se realizó la siembra de 4 a 5 colonias extraídas del medio mCCDA en una placa de agar sangre para el proceso de confirmación microbiológica; sin embargo, es posible que en las placas se pueda presentar crecimiento mixto de cepas de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni*. Recordemos que de las placas se obtuvieron las colonias para la prueba de hipurato así como para la confirmación molecular por PCR. Lynch *et al.* (2022) evaluaron 5 colonias compatibles a *Campylobacter* spp. de muestras de piel y heces de pollo de placas de cultivo mCCD y descubrieron que existía colonización mixta entre *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en las placas. Huang *et al.* (2016) reportó que el 19.5% del total de sus aislados provenientes de carne de pollo, presentaron colonización mixta de *C.jejuni/C.coli*. Si fuera el caso que nuestras muestras hubieran tenido

colonización mixta estos resultados discrepantes se hubieran observado en más muestras; sin embargo, fueron esas dos únicas muestras que presentaron este comportamiento.

En el presente estudio, 56 cepas identificadas como *Campylobacter* spp fueron evaluadas para determinar su patrón de sensibilidad antimicrobiana frente a macrólidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas. Con respecto a las tetraciclinas, se observó que el 100% de las cepas aisladas evidenciaron resistencia frente a este antibiótico. Estos resultados fueron superiores a los reportados por Quino *et al.* (2022) en donde el porcentaje de resistencia a tetraciclinas fue del 85.7% y 71.3% para *C. coli* y *C. jejuni*, respectivamente en muestras provenientes de humanos y pollos de carne. La elevada tasa de resistencia frente a las tetraciclinas también es observada en otros países del continente americano. En Ecuador, Park (2020) encontró que el 100% de las cepas aisladas en diferentes tejidos de pollos de carne presentaron resistencia a este fármaco siendo comparable a los resultados del presente estudio. En Chile, Gutierrez *et al.* (2017) analizaron muestras de heces y carne de aves de corral encontrando que el 77% de las cepas aisladas presentaron resistencia a tetraciclina.

El pollo de carne es considerado el principal reservorio de *Campylobacter* spp y, por ende, la principal fuente de infección en seres humanos (Soto-Beltrán *et al.*, 2022). La tetraciclina es considerada el antibiótico más empleado en la crianza de avícola en Estados Unidos y Europa (Mehdi *et al.*, 2018) esto podría explicar el por qué la elevada tasa de resistencia observada en los últimos estudios, incluido el nuestro, debido al uso indiscriminado de este antibiótico en la producción animal, pudiendo estar ocasionando el aumento de cepas resistentes (Sharifi *et al.*, 2021).

Con respecto a los macrólidos, los hallazgos en el presente estudio reflejaron un porcentaje de resistencia del 94.6% para eritromicina, esto coincide con lo mostrado por Anampa *et al.* (2020) en donde el 100% de las cepas aisladas de piel de pollo presentaron resistencia para eritromicina. Otros estudios realizados en el Perú por Pollet *et al.* (2012) y Moya-Salazar *et al.* (2018) encontraron porcentajes de resistencia bajos a eritromicina del 5.3%

y 7.3%, respectivamente en muestras de heces de humanos. Con respecto a la azitromicina, se observó que el 58.9% del total de cepas presentaron resistencia. Estudios anteriores realizados en el Perú por Pollet *et al.*, (2012) y Lluque *et al.* (2017) encontraron porcentajes de resistencia a azitromicina del 1.6% y 13%, respectivamente. Estos resultados evidencian un aumento de las cepas resistentes a macrólidos, tanto para azitromicina como eritromicina, en el Perú en los últimos 10 años.

Otro hallazgo interesante es que, pese a pertenecer a la misma familia antimicrobiana, un 94.6% y 58.9% de cepas fueron resistentes a eritromicina y azitromicina, respectivamente. Esta diferencia también se pudo observar en otro estudio realizado por Gunasekaran *et al.* (2022) donde en muestras provenientes de mucosa de ciegos de pollos hallaron que el 71.4% y 64.2% de aislados fueron resistentes a eritromicina y azitromicina, respectivamente. En Estados Unidos, Poudel *et al.* (2022) hallaron en muestras provenientes de carne de pollo y del ambiente de granja, un porcentaje de resistencia a eritromicina del 16.9% y azitromicina del 11.9%. Estas diferencias en la presentación de resistencia entre macrólidos podrían estar relacionada a la diversidad de mecanismos de resistencia. La resistencia a macrólidos está asociado generalmente a alteraciones en las proteínas ribosómicas L4 y L22 y en las posiciones 2074 y 2075 del 23S rRNA (Choi *et al.*, 2021), así como por la presencia del gen *erm(B)* (Anampa *et al.*, 2020). Un estudio realizado por Li *et al.* (2017) en muestras provenientes de ciegos de pollo de engorde, evidenció que algunas cepas resistentes a azitromicina no presentaban mutaciones en el 23S rRNA, mientras que otras cepas presentaban el gen *erm(B)* y en ninguna se detectaron mutaciones en las proteínas ribosómicas L4 y L22.

En la evaluación de la resistencia a fluoroquinolona (ciprofloxacina) se observó un alto porcentaje 84% (47/56) de resistencia lo cual coincide con reportes previos realizados en el Perú por Anampa *et al.* (2020), Pollet *et al.* (2012), Lluque *et al.* (2017) y Moya-Salazar *et al.* (2018) en donde la tasa de resistencia frente a este fármaco fue del 100%, 89.8%, 88.7% y 87%, respectivamente.

Los macrólidos y fluoroquinolonas son antimicrobianos ampliamente usados en la industria avícola del mundo, incluido el Perú (Pollet *et al.*, 2012). La elevada tasa de resistencia frente a estos fármacos podría atribuirse a su uso indiscriminado como promotores de crecimiento, así como en el tratamiento y prevención de enfermedades, pudiendo generar un serio problema en la Salud Pública de las personas, debido a que, de manera usual, los cuadros de Campilobacteriosis son ocasionados por cepas de *Campylobacter* spp provenientes de alimentos de origen animal, especialmente, pollos de carne (Anampa *et al.*, 2020).

Asimismo, en el presente estudio se observó en un 23.2% del total de cepas una clasificación “Intermedia” a diferentes antimicrobianos, en donde 11 aislados correspondieron a *C. coli* y 2 a *C. jejuni*. Nuestros resultados fueron similares a los reportados por Schreyer *et al.* (2022) en donde observaron que la mayoría de los aislamientos con clasificación “Intermedia” correspondieron a *C. coli*, lo cual se considera un serio problema de salud pública puesto a que la categoría “Intermedia” incluye aislamientos que mostraron susceptibilidad reducida a los antimicrobianos a diferencia de los aislados susceptibles. Debido a su efecto terapéutico incierto *in vivo*, en el presente estudio se consideró a las cepas “Intermedias” como resistentes o no sensibles de acuerdo con los puntos de corte descritos por Paravisi *et al.* (2020).

Los valores de IRMA superiores a 0.2 indican que estas bacterias provienen de un ambiente con un riesgo alto de adquisición/producción de resistencia relacionada al sobreuso de antibióticos, siendo esto considerado un problema de salud pública. Basados en los valores de IRMA, otros reportes también indican la presencia de cepas de *Campylobacter* multirresistentes en porcentajes de 97.2% (Shakir *et al.*, 2021) y 90% (Noreen *et al.*, 2020). El alto porcentaje (78.6%) de bacterias multidrogo-resistentes también ha sido reportado por Santos-Ferreira *et al.* (2022) y Zhang *et al.* (2018).

Debido a su variabilidad genética y capacidad de adaptación enfocada en la sobrevivencia a cambios estructurales y de metabolismo en su entorno, *Campylobacter* spp presenta gran capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos. En definitiva, la resistencia de

Campylobacter a múltiples antibióticos se puede relacionar con la existencia de genes de resistencia. En el caso de macrólidos el gen *ermB* es el principal mecanismo de resistencia. En lo que respecta a las tetraciclinas, (Sharifi *et al.*, 2021) menciona que el gen *tetO* presente en los plásmidos transmisibles en conjunto con la bomba de flujo *CmeABC* codificada por un operón de tres genes ubicado en el cromosoma, le otorgan a *Campylobacter* spp una elevada resistencia frente a esta familia de antibióticos. Mientras que, para las fluoroquinolonas, el mecanismo de resistencia frente a estos fármacos se encuentra mediado principalmente por mutaciones puntuales en la región determinante de resistencia a las quinolonas (RDQR) en el gen *gyrA* (Adiguzel *et al.*, 2021).

En el presente estudio, a pesar de que se encontraron variaciones entre las marcas comerciales, no se puede decir que una marca sea mejor que otra, debido a que eso involucraría hacer una evaluación del procesamiento. En caso nos basáramos solo por los resultados daríamos que la marca S3 fue la mejor debido a que presentó una menor contaminación, sin embargo, hace falta evaluar las condiciones en las cuales se realizó el procesamiento y eso no se evaluó en el presente estudio. Stadlmuller *et al.* (2017) mencionan que el grado de contaminación bacteriana en las canales de pollo puede variar de acuerdo con la forma de crianza en granja y las prácticas de procesamiento de los pollos durante el faenado. Un estudio realizado por Habib *et al.* (2022) encontraron diferencias con respecto a la presencia de *Campylobacter* spp. en carne de pollo refrigerada de 7 marcas comerciales provenientes de diferentes supermercados lo cual atribuyeron posiblemente a diferencias entre las prácticas de higiene en el procesado de las canales, así como la edad de las aves y el tamaño de la canal al momento del beneficio; sin embargo, mencionó la importancia de realizar otros estudios para determinar cómo estos factores podrían influir en la contaminación de las carcasas de pollo por *Campylobacter* spp.

Por otro lado, cuando se evaluaron los resultados en base a los distritos, se pudo encontrar que las muestras analizadas en los supermercados de Santiago de Surco, La Molina y

San Borja orientados a un nivel socioeconómico (NSE) “A” (Promperú, 2015) presentaron una menor contaminación con respecto al distrito de Surquillo, categorizado dentro del NSE “C”. Estos resultados también deben ser tomados con cuidado ya que al ser el producto evaluado fue seleccionado de supermercados y debería cumplir con las mismas condiciones de manejo de producto en cualquier distrito ya sea en su envasado y distribución, esto considerando que estos establecimientos se rigen en base a buenas prácticas de manipulación y planes de control de riesgos. Con estos resultados estaríamos evidenciando que esto no es así y que existiría una diferencia entre los supermercados en base a su NSE. Es necesario realizar más evaluaciones que tengan como objetivo la evaluación de la contaminación de carne de pollo por *Campylobacter* spp. en relación con los NSEs para afianzar los resultados presentados en este trabajo.

VI. CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que la carne de pollo obtenidas de muestras de corte pierna con encuentro envasadas, refrigeradas y vendidas en supermercados de 4 distritos de Lima Sur presentaron contaminación con *Campylobacter* spp. Así mismo, se pudo observar una elevada tasa de resistencia a tetraciclina, ciprofloxacina, azitromicina y eritromicina evaluados en el presente estudio.

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar los genes que están involucrados en la resistencia fenotípica a partir de las muestras empleadas en el presente estudio.
- Evaluar la presencia de *Campylobacter* spp. en muestras de intestino/heces de pollos destinados a consumo humano.
- Realizar un monitoreo de la resistencia de otros antimicrobianos utilizados en la industria avícola.

VIII. LITERATURA CITADA

1. *Abd El-Hack M, El-Saadony M, Shehata A, Arif M, Paswan V, El-Saber Batiha G, Khafaga A, Elbestawy A. 2020.* Approaches to prevent and control *Campylobacter* spp. colonization in broiler chickens: a review. *Environ Sci* 28: 4989-5004.
2. *Adiguzel M, Brito D, Wu Z, Pang J, Cengiz S, Zhang Q, Sahin O. 2021.* Distribution of CRISPR Types in Fluoroquinolone-Resistant *Campylobacter jejuni* Isolates. *Pathogens* 10: 345.
3. *Alaboudi A, Malkawi I, Osaili T, Abu-Basha E, Guitian J. 2020.* Prevalence, antibiotic resistance and genotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from chickens in Irbid governorate, Jordan. *International Journal of Microbiology* 327: 108656.
4. *Alarjani K, Elkhadragey M, Al-Masoud A, Yehia H. 2021.* Detection of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella typhimurium* in chicken using PCR for virulence factor *hipO* and *invA* genes (Saudi Arabia). *Biosci Rep* 41: BSR20211790.
5. *Alav I, Kobylka J, Kuth M, Pos K, Picard M, Blair J, Bavro V. 2021.* Structure, Assembly, and Function of Tripartite Efflux and Type 1 Secretion Systems in Gram-Negative Bacteria. *Chemical Reviews* 121: 5479-5596.

6. **Ammar A, El-Naenaeey E, El-Hamid M, El-Gedawy A, El-Malt R. 2021.** Campylobacter as a major foodborne pathogen: A review of its characteristics, pathogenesis, antimicrobial resistance and control. *J Microbiol Biotech Food Sci* 10: 609-619.
7. **Anampa D. 2020.** Detección de genes Gyr(A) y Erm(B) de resistencia antimicrobiana en cepas patógenas de *Campylobacter* spp. aisladas de canales de pollos comercializados en Lima Metropolitana. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 92 p.
8. **Anampa D, Benites C, Lázaro C, Espinoza J, Angulo P, Díaz D, Manchego A, Rojas M. 2020.** Detección del gen ermB asociado a la resistencia a macrólidos en cepas de *Campylobacter* aisladas de pollos comercializados en Lima, Perú. *Rev Panam Salud Publica* 44: e60.
9. **Andrzejewska M, Szczepanska B, Spica D, Klawe J. 2019.** Prevalence, Virulence, and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* spp. in Raw Milk, Beef, and Pork Meat in Northern Poland. *Foods* 8: 420.
10. **Bailey R, Kranis A, Psifidi A, Watson K, Rothwell L, Hocking P, Kaiser P, Stevens M, Avedano S. 2018.** Colonization of a commercial broiler line by *Campylobacter* is under limited genetic control and does not significantly impair performance or intestinal health. *Poultry Science* 97: 4167-4176.
11. **Baker M, Grout L, Wilson N. 2020.** Update on the campylobacter epidemic from chicken meat in New Zealand: The urgent need for an upgraded regulatory response. *Epidemiol Infect* 149: e30.
12. **Bhunja A. 2018.** *Campylobacter* and *Arcobacter*. *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, (2nd edition, pp 289– 299). Food Science Text Series.
13. **Bolton D. 2015.** *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol* 48: 99-108.

14. **Cain J, Dale A, Niewold P, Klare W, Man L, White M, Scott N, Cordwell S. 2019.** Proteomics reveals multiple phenotypes associated with N-linked glycosylation in *Campylobacter jejuni*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 18(4), 715-734. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.001199>
15. **Cantero J. 2017.** *Campylobacter* spp. en granjas de pollos de engorde: diversidad genética, resistencia antimicrobiana y factores de virulencia. Bellaterra: Univ. Autònoma de Barcelona. 191 p.
16. **Cardoso M, Ferreira V, Truninger M, Maia R, Teixeira P. 2021.** Cross-contamination events of *Campylobacter* spp. in domestic kitchens associated with consumer handling practices of raw poultry. *Int J Food Microbiol* 338: 108984.
17. **Cayrou C, Barratt N, Ketley J, Bayliss C. 2021.** Phase Variation During Host Colonization and Invasion by *Campylobacter jejuni* and Other *Campylobacter* Species. *Microbiol Frontal* 12: 705139.
18. **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: 1077.
19. **Chon J, Seo K, Kim B, Jeong D, Song K. 2020.** Advanced Methods for Isolating from and Confirming *Campylobacter* spp. in Milk and Dairy Products: Review. *J Dairy Sci Biotechnol* 383: 121-133.
20. **CLSI. 2015.** Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, 3rd edition (M45). Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.
21. **Collado L. 2020.** Diagnóstico microbiológico y vigilancia epidemiológica de la campilobacteriosis en Chile: Situación actual y desafíos futuro. *Revista Chilena de Infectología* 37: 244-251.

22. **Costa D, Iraola G. 2019.** Pathogenomics of Emerging Campylobacter Species. *Clinical Microbiology Reviews* 32: e00072-18.
23. **De Melo F, Da Silva P, Clemente S, De Melo R. 2021.** Detection of Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, and virulence genes in poultry products marketed in Northeastern Brazil. *Research, Society and Development* 10: e542101019224.
24. **EFSA/ECDC. 2017.** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 15(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077>.
25. **EFSA/ECDC. 2022.** The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019–2020. *EFSA Journal* 20(3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7209>.
26. **El-Naenaeey E, Abd El-Hamid M, Khalifa E. 2020.** Foodborne Campylobacter species: Taxonomy, Isolation, Virulence Attributes and Antimicrobial Resistance. *Zagazig Veterinary Journal* 48: 414-432.
27. **Francois L, Laughlin M, Joseph L, Chen J, Nichols M. 2021.** Ongoing outbreak of extensively drug-resistant Campylobacter jejuni infections associated with US Pet Store Puppies, 2016-2020. *JAMA Netw Open* 4: e2125203.
28. **Firdich E, Biboy J, Huynh S, Parker C, Vollmer W, Gaynor E. 2017.** Morphology heterogeneity within a Campylobacter jejuni helical population: the use of calcofluor white to generate rod-shaped C. jejuni 81-176 clones and the genetic determinants responsible for differences in morphology within 11168 strains. *Molecular Microbiology* 104: 948-971.
29. **Gahamanyi N, Mboera L, Matee M, Mutangana D, Komba E. 2020.** Prevalence, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance Profiles of Thermophilic Campylobacter Species in Humans and Animals in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *Int J of*

Microbiol 2020: 2092478.

30. **García-Sánchez L, Melero B, Rovira J. 2018.** Campylobacter in the Food Chain. *Advances in Food and Nutrition Research* 86: 215-252.
31. **Garcia-Vello P, Di Lorenzo F, Zucchetta D, Zamyatina A, De Castro C, Molinaro A. 2021.** Lipopolysaccharide lipid A: A promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics. *Pharmacol Ther* 230: 107970.
32. **Gharbi M, Bejaoui A, Ben C, Ghedira K, Ghram A, Maarouf A. 2021.** Distribution of virulence and antibiotic resistance genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broiler chickens in Tunisia. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 55: 1273-1282.
33. **Ghazanfar F, Rabbani M, Ghafoor A, Hassan M. 2022.** Evaluation of Antimicrobial Activity of Organic Acids against *Campylobacter jejuni* in Broilers. *Pakistan J. Zool* 54: 2851-2856.
34. **Gill G. 2021.** Epidemiologic characteristics of *Campylobacter* infections in high-income countries: a systematic review. *Journal of Microbiology, epidemiology and Immunobiology* 98: 588-596.
35. **Gunasekaran K, Vellapandi S, Ananda M, Kumaragurubaran K. 2022.** Virulence, MLST analysis, and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from broiler chickens in Tamil Nadu, India. *Iranian Journal of Veterinary Research* 23: 128-136.
36. **Gutierrez S, Orellana D, Martinez C, García V. 2017.** Caracterización de cepas de *Campylobacter jejuni* obtenidas desde carne de pollo y heces de aves de corral de la zona central de Chile. *Rev Med Chile* 145: 1551-1558.
37. **Habib I, Mohamed M, Bhagya G, Khan M, Li D. 2022.** Quantification of *Campylobacter* contamination on chicken carcasses sold in retail markets

in the United Arab Emirates. *International Journal of Food Contamination* 9:9.

38. **Hansson I, Sandberg M, Habib I, Lowman R, Engvall E. 2018.** Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis. *Transbound Emerg Dis* (Suppl. 1): 30-48.
39. **Huang J, Zong Q, Zhao F, Zhu J, Jiao X. 2016.** Quantitative surveys of *Salmonella* and *Campylobacter* on retail raw chicken in Yangzhou, China. *Food Control* 59: 68-73.
40. **Hudzicki J. 2009.** Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol.
41. **Iglesias Y. 2018.** Estructura poblacional y mecanismos de resistencia a antibioticos en *Campylobacter jejuni* aislados en humanos y aves. Barcelona: Univ. Autónoma de Barcelona. 256 p.
42. **ISO: International Organization for Standardization. 2017.** Microbiology of the food chain -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 1: Detection method. ISO 10272-1:2017. Obtenido de:
<https://www.iso.org/standard/63225.html>.
43. **Johnson T, Shank J, Johnson J. 2017.** Current and Potential Treatments for Reducing *Campylobacter* Colonization in Animal Hosts and Disease in Humans. *Frontiers in Microbiology* 8: 487.
44. **Jribi H, Sellami H, Mariam S, Smaoui S, Ghorbel A, Hachicha S, Benejat L, Messadi-Akrout F, Mégraud, F, Gdoura R. 2017.** Isolation and Identification of *Campylobacter* spp. from Poultry and Poultry By-Products in Tunisia by Conventional Culture Method and Multiplex Real-Time PCR. *J Food Prot* 80: 1623-1627.
45. **Kittler S, Shakeri G, Peh E, Plötz M. 2021.** A One Health Perspective on a Multi-hurdle Approach to Combat *Campylobacter* spp. in Broiler Meat. *Current Clinical Microbiology Reports* 8: 49-61.

46. **Kuhn K, Hvass A, Christiansen A, Ethelberg S, Cowan S. 2021.** Sexual Contact as Risk Factor for Campylobacter Infection, Denmark. *Emerg Infect Dis* 27: 1133-1340.
47. **Lazaro 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. *International Journal of Poultry Science*, 11: 677-682.
48. **Li B, Ma L, Li Y, Jia H, Wei J, Shao D, Liu K, Shi Y, Qiu Y, Ma Z. 2017.** Antimicrobial Resistance of Campylobacter Species Isolated from Broilers in Live Bird Markets in Shanghai, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 14: 96-102.
49. **Liu D, Liu W, Lv Z, Xia J, Li X, Hao Y, Zhou Y, Yao H, Liu Z, Wang Y, Shen J, Ke Y, Shen Z. 2019.** Emerging erm(B)-Mediated Macrolide Resistance Associated with Novel Multidrug Resistance Genomic Islands in Campylobacter. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 63: e00153-19.
50. **Linton D, Lawson A, Owen R, Stanley J. 1997.** PCR Detection, Identification to Species Level, and Fingerprinting of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Direct from Diarrheic Samples. *Journal of Clinical Microbiology* 35: 2568–2572.
51. **Lluque A, Riveros M, Prada A, Ochoa T, Ruiz J. 2017.** Virulence and Antimicrobial Resistance in Campylobacter spp. from a Peruvian Pediatric Cohort. *Scientifica (Cairo)* 2017: 1-8.
52. **Lynch H, Franklin-Hayes P, Koolman L, Egan J, Gutierrez M, Byrne W, Golden O, Bolton D, Reid P, Coffey A, Lucey B, O'Connor L, Unger K, Whyte P. 2022.** Prevalence and levels of Campylobacter in broiler chicken batches and carcasses in Ireland in 2017–2018. *International Journal of Food Microbiology* 372: 109693.
53. **Mazeiro M, Oliveira T. 2011.** Contaminação de carcaças de frango por Campylobacter jejuni antes e após armazenamento sob resfriamento ou congelamento. *Pubvet* 5: 6.

54. **Mehdi Y, Letourneau-Montminy M, Gaucher M, Chorfi Y, Suresh G, Rouissi T, Kaur S, Coté C, Avalos A, Godbout S. 2018.** Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Anim Nutr* 4: 170-178.
55. **Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. 2022.** Boletín estadístico mensual producción y comercialización de productos avícolas. Perú: MIDAGRI. Boletín Estadístico Mensual: Julio 2022.
56. **Miller S, Salama N. 2018.** The gram-negative bacterial periplasm: Size matters. *PLoS Biol* 16: e2004935.
57. **Ministerio de Agricultura y Riego. 2020.** Panorama y Perspectivas de la producción de carne de pollo en el Perú. Perú: MINAGRI. Norma técnica N°3: Enero 2020. 22 p.
58. **Mohammadzadeh M, Montaseri M, Hosseinzadeh S, Majlesi M, Berizi E, Zare M, Derakhshan Z, Ferrante M, Oliveri G. 2021.** Antibiotic residues in poultry tissues in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Environ Res* 204(B): 112038.
59. **Molinari G, Barros I, Pinheiro da Silva G, Trettene L, Godoi D, Lunardi M, 2021.** Campilobacterioses em Cães e Gatos: Revisão de Literatura. *Ensaio e Ciência* 25: 275-288.
60. **Moya-Salazar J, Terán-Vásquez A, Salazar-Hernández R. 2018.** High-Antimicrobial Resistance to Fluoroquinolones by *Campylobacter* in Pediatric Patients in a Peruvian Hospital. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 35: 156-158.
61. **Myintzaw P, Jaiswal A, Jaiswal S. 2021.** A Review on Campylobacteriosis Associated with Poultry Meat Consumption. *Food Reviews International*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1942487>
62. **Nastasijevic I, Proscia F, Boskovic M, Glisic M, Blagojevic B, Sorgentone S, Kirbis A, Ferri M. 2020.** The European Union control strategy for *Campylobacter* spp. in the broiler meat chain. *Journal of Food Safety* 40: e12819.

63. **Noreen Z, Siddiqui F, Javed S, Wren B, Bokhari H. 2020.** Transmission of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* to children from different sources in Pakistan. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 20: 219-224.
64. **Ouko T, Nyerere A, Njeru J, Fèvre E, Kariuki S. 2021.** Prevalence and Risk Factors Associated with *Campylobacter* Infection in Diarrheal Patients in Busia County, Kenya. *Advances in Microbiology* 11: 657-680.
65. **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 Journal of Poultry Science* 22: 001-010.
66. **Park J. 2020.** Determinación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter* aisladas de pollos de engorde. Quito: Univ. Austral de Chile. 48 p.
67. **Pérez D. 2014.** Estudio de las poblaciones de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* aisladas en etapas iniciales de la producción de pollo de engorde en España: relaciones con cepas de origen clínico. Madrid: Univ. Complutense Madrid. 309 p.
68. **Pollet S, Rocha C, Zepa R, Lilian P, Valencia A, Maximo C, Guevara J, López M, Chuquiray N. 2012.** *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: a ten-year observational study. *BMC Infect Dis* 12:193.
69. **Poudel S, Li T, Chen S, Zhang X, Cheng W, Sukumaran A, Kiess A, Zhang L, 2022.** Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Molecular Characterization of *Campylobacter* Isolated from Broilers and Broiler Meat Raised without Antibiotics. *Microbiol Spectr* 10: e00251-22.
70. **Promperu. 2015.** Guia de plan de marketing para turismo interno. [Internet], [26 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.promperu.gob.pe/TurismoIN/sitio/VisorDocumentos?titulo=Gu%C3%ADa>

%20de%20plan%20de%20marketing%20para%20turismo%20interno&url=~/Uploads/trade_market/guias_marketing/1007/Plan_de_mkt_turismo_interno%20(1).pdf&nombObjeto=Gu%C3%ADas%20de%20Plan%20de%20Marketing&back=/TurismoIN/sitio/GuiasPlanMarketing

71. **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. *Froniers in Microbiology* 12: 802404.
72. **Riegert A, Raushel F. 2021.** Functional and Structural Characterization of the UDP-Glucose Dehydrogenase Involved in Capsular Polysaccharide Biosynthesis from *Campylobacter jejuni*. *Biochemistry* 60: 725-734.
73. **Roth N, Kasbohrer A, Mayrhofer S, Zitz U, Hofacre C, Domig K. 2019.** The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. *Poultry Science* 98: 1791-1804.
74. **Sakaridis I, Papadopoulos T, Boukouvala E, Ekateriniadou L, Samouris G, Zdragas A. 2019.** Prevalence, Antimicrobial resistance, and molecular typing of thermophilic *Campylobacter* spp. in a greek poultry slaughterhouse. *Sciend* 69: 325-339.
75. **Same R, Tamma P. 2018.** *Campylobacter* Infections in Children. *Pediatr Rev*, 39: 533-541.
76. **Santos-Ferreira N, Ferreira V, Teixeira P. 2022.** Occurrence and Multidrug Resistance of *Campylobacter* in Chicken Meat from Different Production Systems. *Foods* 11: 1827.
77. **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. *Current Research in Food Science* 5: 590-597.

78. **Shakir Z, Alhatami A, Ismail Y, Muhsen H. 2021.** Antibiotic Resistance Profile and Multiple Antibiotic Resistance Index of Campylobacter Species Isolated from Poultry. Archives of Razi Institute 76: 1677-1686.
79. **Sharifi S, Bakhshi B, Najar-peerayeh S. 2021.** Significant contribution of the CmeABC Eflux pump in high-level resistance to ciprofloxacin and tetracycline in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli clinical isolates. Ann Clin Microbiol Antimicrob 20: 36.
80. **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. Frontiers in Microbiology 9: 2002.
81. **Sierra-Arguello Y, Perdoncini G, Rodrigues L, Ruschel L, Apellanis K, Quedi T, Pippi C, De Souza L, Pereira M, Pinheiro do Nascimento V. 2021.** Identification of pathogenic genes in Campylobacter jejuni isolated from broiler carcasses and broiler slaughterhouses. Sci Rep 11: 4588.
82. **Silva M, Pereira G, Carneiro C, Hemphill A, Mateus L, Lopes-da-Costa L, Silva E. 2020.** Campylobacter portucalensis sp. nov., a new species of Campylobacter isolated from the preputial mucosa of bulls. Plos One 15: e0227500.
83. **Silva W, Targino B, Gonçalves A, Silva M, Hungaro H. 2018.** Campylobacter: An Important Food Safety Issue. Food Safety and Preservation 13: 391-430.
84. **Sithole V, Amoako D, King A, Perrett K, Bester L, Essack S. 2021.** Occurrence, Antimicrobial Resistance, and Molecular Characterization of Campylobacter spp. in Intensive Pig Production in South Africa. Pathogens 10: 439.
85. **Soto-Beltrán M, Lee B, Amézquita-López B, Quiñones B. 2022.** Overview of methodologies for the culturing, recovery and detection of Campylobacter. International Journal of Environmental Health Research 1-17.
86. **Stadmüller L, Matt Monika, Stüger H, Komericki-Strimitzer T, Jebousek K,**

- Luttenfeldner M, Fuchs K. 2017.* An operational hygiene inspection scoring system for Austrian high-risk companies producing food of animal origin. *Food Control* 77: 121-130.
87. *Taniguchi T, Ohki M, Urata A, Ohshiro S, Tarigan E, Kiatsomphob S, Vetchapitak T, Sato H, Misawa N. 2021.* Detection and identification of adhesins involved in adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin. *Int J Food Microbiol* 337: 108929.
88. *Tian M, He X, Feng Y, Wang W, Chen H, Gong M, Liu D, Liu J. 2021.* Pollution by antibiotics and antimicrobial resistance in liveStock and poultry manure in China, and Countermeasures. *Antibiotics* 10: 539.
89. *Ugarte M. 2015.* Deteccion y caracterizacion de *Campylobacter* procedentes de animales, alimentos y agua residual. Madrid: Univ. Complutense de Madrid. 171 p.
90. *Urdaneta S. 2016.* Epidemiología de *Campylobacter* spp. en granjas de pollos de engorde: Prevalencia, factores de riesgo y dinámica de infección. Bellatera: Univ. Autónoma de Barcelona. 148 p.
91. *Uzundumlu A, Dilli M. 2022.* Estimating Chicken Meat Productions of Leader Countries for 2019-2025 Years. *Ciência Rural* 53: e20210477.
92. *Wallace R, Cribb D, Bulach D, Ingle D, Joensen K, Nielsen E, Leekitcharoenphon P, Stingl K, Kirk M. 2021.* *Campylobacter jejuni* ST50, a pathogen of global importance: A comparative genomic analysis of isolates from Australia, Europe and North America. *Zoonoses Public Health* 68: 638-649.
93. *Wang Y, Zhang M, Deng F, Shen Z, Wu C, Zhang J, Zhang Q, Shen J. 2014.* Emergence of Multidrug-Resistant *Campylobacter* Species Isolates with a Horizontally Acquired rRNA Methylase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58: 5405–5412.
94. *Wangroongsarb P, Cheunban N, Jittaprasatsin C, Kamthalang T, Saipradit N, Chaichana P, Pulsrikarn C, Parnmen S, Sripichai O. 2021.* Prevalence and

antimicrobial susceptibility of Campylobacter isolated from retail chickens in Thailand. Int J Food Microbiol 339: 109017.

95. **Who: World Health Organization. 2020.** Campylobacter. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>.
96. **Yan W, Zhou Q, Yuan Z, Fu L, Wen C, Yang N, Sun C. 2021.** Impact of the gut microecology on Campylobacter presence revealed by comparisons of the gut microbiota from chickens raised on litter or in individual cages. BMC Microbiol 21: 290.
97. **Yang Y, Feye K, Shi Z, Pavlidis H, Kogut M. 2019.** A Historical Review on Antibiotic Resistance of Foodborne Campylobacter. Front Microbiol 10:1509.
98. **Yao H, Shen Z, Wang Y, Deng F, Liu D, Naren G, Dai L, Su C, Wang B, Wang S, Wu C, Yu E, Zhang Q, Shen J. 2016.** Emergence of a Potent Multidrug Efflux Pump Variant That Enhances Campylobacter Resistance to Multiple Antibiotics. American Society for Microbiology 7: e01543-16.
99. **Zhang Q, Sahin O. 2020.** Campylobacteriosis. Diseases of Poultry 17: 754-769.
100. **Zhang X, Tang M, Zhou Q, Zhang J, Yang X, Gao Y. 2018.** Prevalence and Characteristics of Campylobacter Throughout the Slaughter Process of Different Broiler Batches. Front Microbiol 9:2092.
101. **Zhang X, Zhou Q, Tang M, Pu J, Zhang J, Lu J, Zhang Y, Gao Y. 2021.** Aminoglycoside Resistance and Possible Mechanisms in Campylobacter Spp. Isolated From Chicken and Swine in Jiangsu, China. Front Microbiol 12: 716