



UNIVERSIDAD DEL AZUAY

DEPARTAMENTO DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN GESTIÓN DE CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA II

Estudio de la presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos, provenientes de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto” de la ciudad de Cuenca-Ecuador.

**TESIS PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MÁSTER EN GESTIÓN
DE CALIDAD Y
SEGURIDAD
ALIMENTARIA**

AUTORA:

Marcela Moreno Yanes

DIRECTORA:

María Fernanda Rosales Medina

Cuenca, Ecuador 2015

DEDICATORIA

Dedico este trabajo realizado con mucho esfuerzo a mi abuelita María Ordóñez (†), que desde donde se encuentre sigue de una u otra forma protegiéndonos y brindándonos todo su amor y apoyo.

A mis padres Jorge y Mirian por todo su esfuerzo, amor y sacrificio.

A todos mis seres queridos y a todas aquellas personas que de una u otra manera me han ayudado a lo largo de la vida.

Con todo mi amor para ustedes.

Marcela

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas facilitando cada situación para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello es muy grato para mí utilizar este espacio y expresarles mi agradecimiento.

Principalmente a mis Padres por su apoyo incondicional tanto moral cuanto económico para llevar a cabo esta investigación.

Un agradecimiento muy especial y sincero a la Ing. María Fernanda Rosales, docente de la Universidad del Azuay y Directora de Tesis por su apoyo y confianza en este trabajo. Gracias por su paciencia y sus consejos que de seguro me serán muy útiles a lo largo de mi vida profesional.

Este trabajo no lo hubiese concluido sin la ayuda de una persona muy especial, gracias Ange por darme fuerza y ayudarme a desarrollar este trabajo, y por tu apoyo incondicional siempre.

Marcela

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos, provenientes de los mercados El Arenal y 10 de Agosto de la ciudad de Cuenca, teniendo en consideración una prevalencia menor del 10%. El diseño de la investigación fue descriptivo de corte transversal, realizado durante el mes de septiembre de 2015 e incluyó un total de 75 muestras. Estas muestras fueron procesadas según el método colorimétrico Simplate® Campylobacter, el cual determina cuantitativamente *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* a través del método del número más probable (NMP). Del 100% de muestras analizadas el 44% resultó positivo para *Campylobacter* mientras que en el 56% no hubo cambio colorimétrico. Los resultados obtenidos exponen la necesidad de realizar trabajos de investigación que identifiquen la magnitud del problema en la ciudad de Cuenca a fin de orientar la implementación de medidas preventivas oportunas y necesarias para evitar brotes o epidemias, así como para obtener una prevalencia real de este microorganismo en nuestro medio.

PALABRAS CLAVE

Campylobacter spp, pollos, Simplate Campylobacter, Ecuador

ABSTRACT

This study was aimed at determining the presence of *Campylobacter* spp in fresh chicken carcasses from *El Arenal* and *10 de Agosto* food markets in the city of Cuenca, considering the prevalence lower than 10%. The research design carried out during the month of September 2015 was descriptive cross-sectional, and included a total of 75 samples. These samples were processed according to the *SimPlate*® *Campylobacter* colorimetric method, which determines quantitatively *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* through the most probable number (MPN) method. Of the 100% samples tested, 44% were positive for *Campylobacter*; however, there was no colorimetric change in 56%. The results showed the need for research to identify the magnitude of the problem in the city of Cuenca in order to implement timely, preventive and appropriate measures to avoid outbreaks or epidemics, as well as to get the true prevalence of this microorganism in our environment.

KEYWORDS: *Campylobacter* Spp, Chicken, *SimPlate* *Campylobacter*, Ecuador



Translated by,

Lic. Lourdes Crespo

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
PALABRAS CLAVE.....	IV
ABSTRACT.....	V
KEY WORDS.....	V
INTRODUCCIÓN.....	- 1 -
CAPÍTULO 1.....	- 5 -
MATERIALES Y MÉTODOS.....	- 5 -
1.1 Localización.....	- 5 -
1.2 Recursos.....	- 5 -
1.2.1 Recursos humanos.....	- 5 -
1.2.2 Recursos institucionales.....	- 5 -
1.2.3 Recursos materiales.....	- 5 -
1.3 Universo y Muestra.....	- 5 -
1.4 Recolección de la muestra.....	- 6 -
1.5 Procesamiento de la Muestra.....	- 6 -
1.6 Análisis de <i>Campylobacter</i> por la técnica Simplate®.....	- 6 -
1.7 Manejo Estadístico de los Datos.....	- 7 -
CAPÍTULO 2.....	- 8 -
RESULTADOS.....	- 8 -
2.1 Datos Obtenidos.....	- 8 -
2.2 Resultados Obtenidos.....	- 8 -
CAPÍTULO 3.....	- 12 -
DISCUSIÓN.....	- 12 -
CAPÍTULO 4.....	- 15 -
CONCLUSIONES.....	- 15 -
REFERENCIAS.....	- 17 -
ANEXOS.....	- 21 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Presencia de Campylobacter spp en carcasas de pollos frescos	- 8 -
Tabla N° 2: Presencia de Campylobacter spp según el lugar de procedencia de las muestras	- 9 -
Tabla N° 3: Presencia de Campylobacter spp según medio de cultivo agar sangre suplementado con Skirrow.....	- 10 -
Tabla N° 4: Comparación Método Simplate® Campylobacter con cultivo tradicional.....	- 11 -
Tabla N° 5: Procedimiento Simplate® Campylobacter. Biocontrol 2010.....	- 24 -
Tabla N° 6: Datos Generales	- 28 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Presencia de Campylobacter spp en carcasas de pollos frescos	- 9 -
Figura N° 2: Presencia de Campylobacter spp según el lugar de procedencia de las muestras.....	- 10 -
Figura N° 3: Presencia de Campylobacter spp según medio de agar sangre con suplemento Skirrow	- 11 -
Figura N° 4: Comparación Método Simplate® Campylobacter con cultivo tradicional.....	- 11 -
Figura N° 5: Protocolo para la identificación de Campylobacter spp	- 23 -
Figura N° 6: Tabla de Conversión SimPlate®	- 26 -
Figura N° 7: Muestra positiva.....	- 27 -
Figura N° 8: Muestra positiva con luz U.V.	- 27 -
Figura N° 9: Muestra negativa	- 27 -
Figura N° 10: Muestra negativa con luz U.V.....	- 27 -
Figura N° 11: Muestra positiva en agar sangre con suplemento de Skirrow.....	- 27 -
Figura N° 12: Tinción de Gram	- 27 -

ANEXOS

ANEXO 1. Recursos Materiales..... - 21 -

ANEXO 2. Protocolo para la identificación de Campylobacter spp - 23 -

ANEXO 3. Simplate® Campylobacter..... - 24 -

ANEXO 4. Resultados obtenidos con el método Simplate® - 27 -

ANEXO 5. Datos generales - 28 -

Silvia Marcela Moreno Yanes

TRABAJO DE GRADUACIÓN

María Fernanda Rosales Medina

Enero, 2016

Estudio de la presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos, provenientes de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto” de la ciudad de Cuenca-Ecuador

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) *Campylobacter* es una de las bacterias que con mayor frecuencia produce gastroenteritis tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo y, conjuntamente con *Salmonella*, es considerada una de las bacterias más implicadas en casos de toxiinfecciones alimentarias alrededor del mundo. (Organización Mundial de la Salud, 2011)

Se cree que el origen primario de las infecciones por *Campylobacter* en el ser humano radica en la manipulación y/o el consumo de carne contaminada, especialmente carne de aves de corral, pues las cavidades internas de los pollos pueden permanecer positivas para *Campylobacter* aún después de que han sido limpiados, empacados y congelados. (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008). Vale destacar que este microorganismo no se multiplica en los alimentos como ocurre con otros agentes como *Salmonella*. (Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2009)

Campylobacter spp es un bacilo Gram negativo delgado, mide 0,2 – 0,9 μm de ancho por 0,5 – 5 μm de longitud (Instituto Nacional de Salud de Colombia, 2013). La mayoría de las especies son microaerófilas y termotolerantes, es decir, crecen bien en ambientes pobres en oxígeno y dióxido de carbono y a una temperatura promedio entre 40-42 °C. (Instituto de Salud Pública de Chile, 2014)

Su morfología varía entre vibriónica, en forma de S o alas de gaviota (cuando están en pares) a cocoide. (Romero Cabello, 2007) Así, en fase logarítmica de crecimiento las células tienen forma espiral o curvada, pero a medida que los cultivos envejecen adquieren formas esféricas. (Sánchez, et al, 2011)

La morfología de las colonias puede oscilar desde planas, convexas, translúcidas o grandes difusas, brillantes con bordes definidos. El color de las colonias puede variar de gris a

amarillentas o rosáceas y no presentan hemólisis en medios con sangre. (Giovaniello, et al, 2006)

Al ser *Campylobacter* una bacteria termotrofa y termosensible se destruye por procesos adecuados de cocción y pasteurización. En condiciones normales su multiplicación es lenta, con un tiempo de generación de una hora. Sobreviven mejor en refrigeración, que a temperatura ambiente (20°C), mientras que el congelamiento no la inactiva instantáneamente. (Instituto Nacional de Salud de Colombia, 2013)

La dosis infectante es baja, bastan 1.000 microorganismos para causar la enfermedad, lo cual evidencia su capacidad de producir epidemias. Sin embargo, en ensayos, la ingestión de tan sólo 500 células de *Campylobacter* ha llevado a la enfermedad en voluntarios. Las diferencias en la dosis infecciosa podrían atribuirse a varios factores, entre ellos el tipo de alimento contaminado consumido y el estado de salud de la persona expuesta. (Walderhaug, 2012)

La gastroenteritis aguda causada por *Campylobacter* se caracteriza por una rápida elevación de la temperatura, acompañada de malestar general, dolor muscular, cefalea, náusea, vómito y tenesmo (Romero Cabello, 2007). La enfermedad es autolimitada y alcanza su mayor expresión entre el segundo y cuarto día, cesando después del séptimo día. (Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Ministerio de Salud de Argentina, 2001)

La muerte por campylobacteriosis es muy rara y se limita a pacientes muy jóvenes, ancianos, o con el sistema inmunológico deprimido. Las complicaciones tales como bacteriemia, hepatitis, pancreatitis, y el aborto involuntario han sido reportados con diverso grado de frecuencia. Complicaciones posteriores a la infección incluyen artritis reactiva y trastornos neurológicos como el síndrome de Guillain-Barré. (Organización Mundial de la Salud, 2011)

En la actualidad el estudio de *Campylobacter* en ciertos países se basa en la identificación y el control de las principales fuentes de infección: carnes de abasto, aves, leche y agua. Las aves constituyen el reservorio principal de *Campylobacter jejuni* (Centers for Disease Control and Prevention, 2014); es posible localizarlas en heces y en carcasas de aves y también es factible la contaminación en los huevos. (Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Ministerio de Salud de Argentina, 2001)

Las canales de aves se contaminan en el matadero durante el desplumado, evisceración y demás manipulaciones. Los pollos se infectan sin mostrar signos de enfermedad, y lo hacen propagándose de un ave a otra a través de una fuente común de agua o por contacto con heces infectadas. (Pascual Anderson, 2005)

Se ha identificado como un importante factor de riesgo de contaminación cruzada por *Campylobacter* la manipulación de aves crudas y el consumo de productos obtenidos de las mismas. (Hartnett, et al, 2009) Una forma muy común de contagio consiste en cortar la carne de pollo en una tabla de picar, y luego usar esa tabla sin lavar y emplearla para preparar verduras u otros alimentos crudos o ligeramente cocidos. (Centers for Disease Control and Prevention, 2014)

El consumo de pollo en los hogares ecuatorianos ha crecido cinco veces más en los últimos 23 años. Mientras en 1990 cada persona consumía 7 kg al año, en el 2013 este indicador ya se ubicó en 35 kg, según la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (Conave). (Diario El Universo, 2014)

De acuerdo a datos obtenidos en el último censo avícola realizado en el año 2006 en Ecuador existe un total de 1.223 granjas avícolas registradas, en las cuales existen 18'850.808 pollos. En la provincia del Azuay existen 70 granjas con 192.235 pollos (broilers). (SINAGAP-MAGAP, 2014)

Según estadísticas del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) el gasto mensual de los hogares por la carne de aves frescas, refrigerada o congelada es de 11,3 millones de dólares. Las tiendas de barrios, bodegas y distribuidoras son las principales abastecedoras. (El Productor, 2013)

Existen granjas avícolas en todas las provincias del país en las cuales la producción es permanente a lo largo del año. El ciclo productivo de un pollo de engorde es de alrededor de 42 días con peso promedio de 2,2 kilos. (Revista el Agro, 2012)

A pesar de la importancia del incremento de *Campylobacter* a nivel mundial, en América Latina muchos países no cuentan con sistemas de diagnóstico estandarizados para ésta enfermedad. Al no disponer de notificaciones de casos de campylobacteriosis esto se convierte en un problema serio pues no se detectan focos ni se elaboran estadísticas, y si éstas últimas existen generalmente corresponden solo a casos confirmados de laboratorio. (Cevallos Almeida, XIX Congreso Latinoamericano de Microbiología VI Congreso Nacional de Microbiología; MEMORIAS, 2008)

Por tanto, en esta investigación se pretende contribuir con datos estadísticos para la ciudad de Cuenca acerca de la presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos, provenientes de los mercados El Arenal y 10 de Agosto, teniendo en consideración que la prevalencia será menor del 10%, obteniendo resultados a nivel de reservorios y no únicamente mediante control de laboratorio clínico.

Además se busca correlacionar los datos obtenidos en éstos mercados con el empleo de un método colorimétrico rápido para establecer la prevalencia real de *Campylobacter* en nuestra ciudad y determinar los factores epidemiológicos asociados a la presencia de este microorganismo: procedencia de las aves, medidas higiénico-sanitarias empleadas, manipulación de los vendedores, que podrían asociarse a mayor prevalencia.

CAPÍTULO 1

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Localización

La presente investigación se la realizó en dos mercados de gran afluencia de la ciudad de Cuenca: “El Arenal” y “10 de Agosto”, ubicados el primero al Oeste de la ciudad de Cuenca, en la Av. de las Américas entre las calles Eduardo Arias, Roberto Crespo y Carlos Arízaga Vega, perteneciente a la parroquia el Batán; y el segundo ubicado en la calle Larga entre las calles Miguel Ullauri y General Torres, perteneciente a la parroquia Gil Ramírez Dávalos.

Las muestras recolectadas fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay, localizado en las calles Hernán Malo y Avenida 24 de Mayo, perteneciente a la parroquia Huayna-cápac.

1.2 Recursos

1.2.1 Recursos humanos

Estudiante egresada de la Maestría en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria de la Universidad del Azuay, para recolectar las muestras y procesarlas, con la tutoría de la Ing. María Fernanda Rosales.

1.2.2 Recursos institucionales

Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay.

1.2.3 Recursos materiales

Los recursos de Laboratorio empleados para la toma de muestras y procesamiento de las mismas se detallan en el **Anexo 1**.

1.3 Universo y Muestra

El Universo estuvo constituido por setenta y cinco muestras de pollos frescos (carcasas) adquiridas en distintos locales de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto”, durante el mes de septiembre de 2015.

1.4 Recolección de la muestra

Se procesaron las muestras de carcasas de pollos adquiridas en los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto”, desde el 07 de septiembre al 14 de septiembre de 2015, realizándose las siguientes actividades:

Toma de muestra: Se recolectaron las muestras de carcasas de pollos en fundas estériles para su posterior procesamiento.

Transporte de las muestras: Una vez adquiridas las muestras se las colocó en un cooler con refrigerantes para preservarlas, tomando en cuenta que a esta temperatura la bacteria en estudio se conserva mejor que a temperatura ambiente, y se las transportó lo más pronto posible al laboratorio.

1.5 Procesamiento de la Muestra

- a) Una vez las muestras llegaron al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay se añadió a cada muestra 300 mL de agua de peptona al 0,1% para realizar el enjuague de la carcasa.
- b) De este enjuague se tomó 40 mL de muestra en un recipiente estéril y se procedió según el flujograma establecido. **(Anexo 2)**
- c) Por una parte se realizó la siembra en agar sangre al 5% con suplemento de Skirrow mediante la técnica de agotamiento, aislamiento o de estría cruzada, y se incubó en cajas bi-petri a 42 °C por 48 horas en una atmósfera microaerofílica.
- d) Pasadas las 48 horas se observó la placa de agar sangre al 5% con suplemento de Skirrow en búsqueda de colonias sospechosas. Con dichas colonias se procedió a realizar la tinción de Gram para verificar la morfología de las colonias y se confirmó además con la técnica Simplate® *Campylobacter*.

1.6 Análisis de *Campylobacter* por la técnica Simplate®

Fundamento de la prueba Simplate® *Campylobacter*

Simplate® es un método basado en reacciones de óxido-reducción y/o de enzimas para detectar, cuantificar y analizar *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en la mitad del tiempo que demora la metodología tradicional, interpretando solamente un cambio de colores y/o fluorescencia que proporciona los resultados en número más probable (NMP), fundamentado en el número de pocillos positivos de un tablero especialmente diseñado.

La multiplicación de los microorganismos altera el potencial redox del medio, lo que resulta en un cambio de color a partir de una reducción bioquímica en la cual la resazurina se transforma en resorufina (rojo) o en dihydroresorufina (incoloro). (Smith & Townsend, 1999)

Procedimiento:

Paralelamente a la siembra en agar sangre al 5% con suplemento de Skirrow se realizó el análisis mediante la técnica Simplate® como se detalla a continuación:

- a) Para reconstituir el medio en polvo se adicionó 9 mL de agua destilada estéril y se homogenizó hasta disolución completa.
- b) Se añadió 1 mL de muestra, 40 µL de aditivo Skirrow y 40 µL de aditivo hemina a cada recipiente homogenizando después de cada adición.
- d) Se retiró la tapa del dispositivo SimPlate® para verter la mezcla muestra/medio en el centro de la placa y se tapó inmediatamente.
- e) Se distribuyó cuidadosamente la mezcla muestra/medio en todos los pocillos y se retiró el exceso de medio en la cavidad esponja.
- f) Se incubó cada dispositivo SimPlate® sin invertirlo durante 48 h a 42°C en ambiente microaerofílico.
- g) Pasadas las 48 h se realizó la lectura de los dispositivos positivos como se detalla en el **Anexo 3**.

En el **anexo 4** se muestran algunas imágenes de los resultados obtenidos con el método Simplate.

1.7 Manejo Estadístico de los Datos

Los datos obtenidos se organizaron en tablas diseñadas para el ingreso de la información proveniente de cada muestra y de los resultados de laboratorio, y se procesaron aplicándose para la prevalencia de *Campylobacter spp* un Test de Hipótesis para Proporciones y para las demás variables una estadística descriptiva para realizar la discusión y obtener las conclusiones correspondientes.

CAPÍTULO 2

RESULTADOS

Durante el mes de septiembre de 2015, se analizaron un total de 75 muestras de enjuague de carcasas de pollos frescos tomadas al azar, procedentes de los mercados El Arenal y 10 de Agosto, con el objetivo de conocer la presencia de *Campylobacter spp.* (**Anexo 5**)

De éstas se obtuvo un total de 33 muestras positivas para *Campylobacter spp.* lo que representa un 44,0% del universo total de la muestra y 42 muestras negativas lo que representa el 56,0%.

2.1 Datos Obtenidos

Las tablas de datos fueron diseñadas para determinar la presencia de *Campylobacter spp.* en carcasas de pollos frescos (Tabla 1), presencia de *Campylobacter* según el lugar de procedencia de las muestras (Tabla 2), presencia de *Campylobacter* según medio de cultivo agar sangre suplementado con Skirrow (Tabla 3) y comparación del método Simplate® *Campylobacter* con cultivo tradicional (agar sangre con suplemento de Skirrow) (Tabla 4).

2.2 Resultados Obtenidos

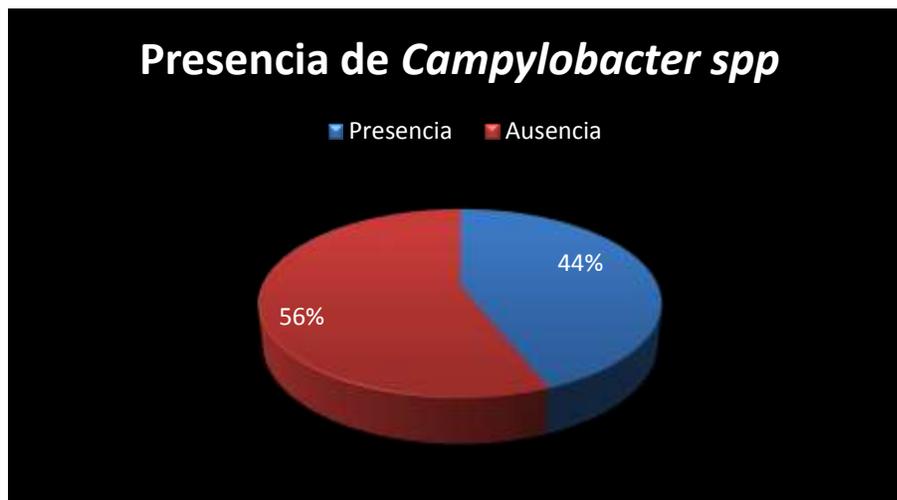
Presencia de *Campylobacter spp.* en carcasas de pollos frescos

La presencia de *Campylobacter spp.* por la técnica Simplate® en el presente estudio fue del 44%, mientras que el 56% no presentaron cambio colorimétrico.

Cabe destacar que dentro de este grupo de muestras positivas existen 4 muestras equivalente a 5,33% que no presentaron cambio colorimétrico en los pocillos, pero hubo cambio de color en la esponja, por cuanto se considera según la tabla de conversión Simplate® que contienen 1 UFC/mL

Tabla N° 1: Presencia de *Campylobacter spp.* en carcasas de pollos frescos

Presencia de <i>Campylobacter spp.</i>	CASOS	%
Presencia	33	44,0%
Ausencia	42	56,0%
TOTAL	75	100,0%

Figura N° 1: Presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos

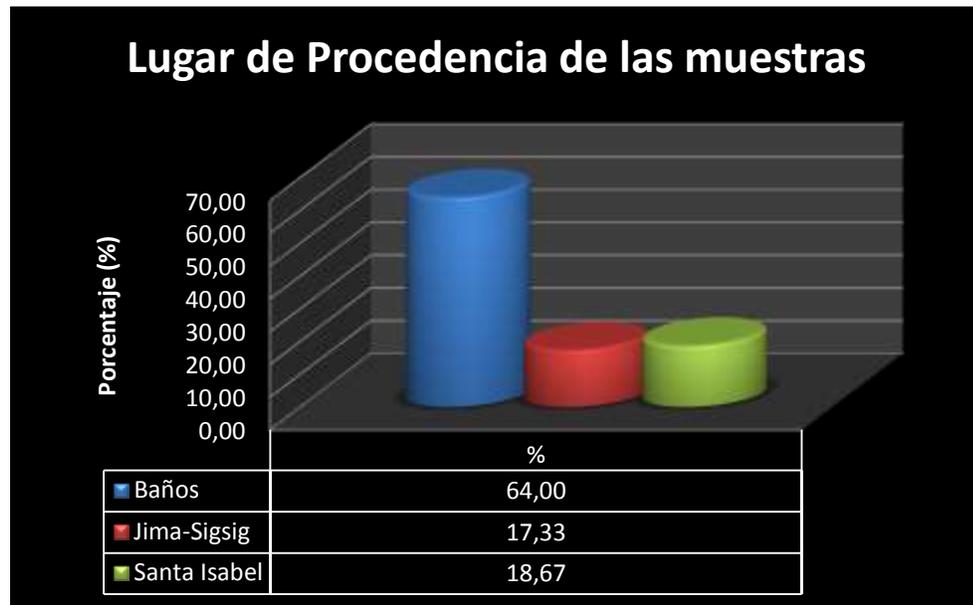
Presencia de *Campylobacter spp* según el lugar de procedencia de las muestras

En cada local donde se adquirieron las muestras se consultó a los vendedores el lugar del cual procedían los pollos para realizar la estadística respectiva.

Según esta información se observa en la Tabla N° 2 todas las muestras provienen de parroquias o cantones pertenecientes a la provincia del Azuay. De ellos, el 64% de las muestras proceden de la parroquia Baños, correspondiente a 48 pollos, el 18,67% pertenecen al cantón Santa Isabel, correspondiente a 14 pollos y el 17,33% provienen de la parroquia Jima del cantón Sigsig, correspondiente a 13 pollos.

Tabla N° 2: Presencia de *Campylobacter spp* según el lugar de procedencia de las muestras

Lugar de procedencia de las muestras	CASOS	%
Baños	48	64,00
Santa Isabel	14	18,67
Jima-Sigsig	13	17,33
TOTAL	75	100,0%

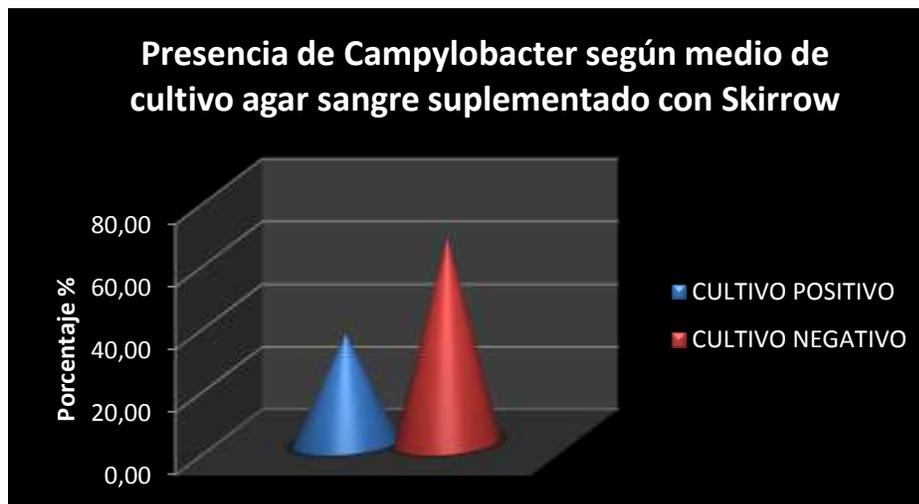
Figura N° 2: Presencia de *Campylobacter spp* según el lugar de procedencia de las muestras

Presencia de *Campylobacter* según medio de cultivo agar sangre suplementado con Skirrow

Tabla N° 3: Presencia de *Campylobacter spp* según medio de cultivo agar sangre suplementado con Skirrow

Presencia de <i>Campylobacter spp</i> en Cultivo Agar sangre + Skirrow	CASOS	%
Cultivo positivo	23	30,67%
Cultivo negativo	52	69,33%
TOTAL	75	100,0%

Figura N° 3: Presencia de *Campylobacter spp* según medio de agar sangre con suplemento Skirrow

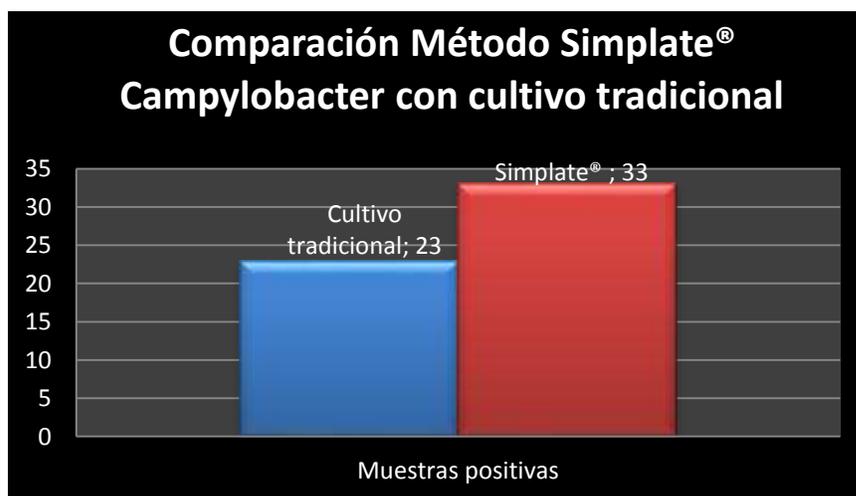


Comparación Método Simplate® Campylobacter con cultivo tradicional (Agar sangre + Skirrow)

Tabla N° 4: Comparación Método Simplate® Campylobacter con cultivo tradicional

Método	Muestras positivas	%
Método tradicional	23	41,07
Simplate® Campylobacter	33	58,93
TOTAL	75	100,00%

Figura N° 4: Comparación Método Simplate® Campylobacter con cultivo tradicional



CAPÍTULO 3

DISCUSIÓN

Se cree que el origen primario de las infecciones por *Campylobacter* en el ser humano radica en la manipulación y/o el consumo de carne contaminada, especialmente carne de aves de corral, pues las cavidades internas de los pollos pueden permanecer positivas para *Campylobacter*, aún después de que han sido limpiados, empacados y congelados. (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008)

A pesar de que la dosis infectante de *Campylobacter* es baja, bastan 1.000 microorganismos para causar la enfermedad, lo cual evidencia su capacidad de producir epidemias. Sin embargo, en ensayos, la ingestión de tan sólo 500 células ha llevado a la enfermedad en voluntarios. (Centers for Disease Control and Prevention, 2014) Es muy importante destacar que entre febrero de 2014 y marzo de 2015 la FSA (Food Standards Agency) realizó un estudio de vigilancia de los niveles de *Campylobacter* en pollos crudos en el Reino Unido en diferentes puntos de venta, en el cual se encontró que el 73% de los pollos eran positivos para la presencia de *Campylobacter*, y el 19% de los pollos presentó una concentración superior a las 1.000 UFC/g. (Food Standards Agency, 2015)

Es así que en el presente estudio y en ausencia de estudios científicos en los que se ponga de manifiesto un límite máximo permitido de *Campylobacter* en aves de corral, se determinó únicamente la presencia de dicha bacteria en carcasas de pollos frescos utilizando un método colorimétrico rápido y de fácil interpretación específico para *Campylobacter*.

Además se corroboró la presencia de este microorganismo a través de agar sangre con suplemento de Skirrow para verificar la morfología de las colonias.

En un estudio realizado por Manopas en el año 2011 se comparó el método SimPlate® *Campylobacter* con el método ISO-NMP según lo estipulado en la norma ISO 10272:1995 evidenciándose que Simplate® mostró una sensibilidad del 100% cuando se utilizó con muestras contaminadas artificialmente. En contraste, ésta disminuyó a 37,5% cuando se ensayaron muestras refrigeradas contaminadas de forma natural de la carne de aves de corral. Para este estudio se emplearon carcasas de pollos frescos, por cuanto se presumiría que la sensibilidad se mantendría con niveles elevados. (Manopas , 2011)

Otros puntos destacables de la investigación realizada por Manopas son que no se detectaron muestras falsas positivas con el método SimPlate® y que un período de incubación prolongado

podría mejorar la sensibilidad del mismo, detalles que se tomaron en consideración para la realización de este proyecto.

En países en vías de desarrollo se estima una incidencia de *Campylobacter* para la población general entre el 5 y el 20%. Esta incidencia es similar a la reportada en países desarrollados. Es así que se tomó este dato para plantear una hipótesis con una prevalencia menor al 10%. Sin embargo tras los resultados obtenidos se observa que este valor es considerablemente superior al reportado por Hartnett et al. (Hartnett, et al, 2009)

La presencia de *Campylobacter spp* por la técnica Simplate® en el presente estudio fue del 44%, dato ubicado dentro del rango reportado en la Unión Europea (UE), en el que se indica que la carne fresca de aves de corral es el vehículo alimenticio contaminado con mayor frecuencia con *Campylobacter*. (ELIKA , 2006) Los datos de prevalencia en canales de aves (pollos de engorde, pavos y patos) durante el sacrificio en el matadero, manipulación y venta, revelan una prevalencia en el matadero del 1,8%–83%, del 26%–53% durante su manipulación y preparación y del 2,2%-62,2% durante su comercialización y venta. (Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization, 2009)

Si se compara el resultado obtenido en el presente estudio con datos de prevalencia de España para *Campylobacter spp* en canales de aves se observa que la prevalencia en dicho país disminuye a medida que las canales de aves pasan del matadero (46%), a la manipulación y preparación (38%) hasta terminar en 25% durante la comercialización. Y si nos centramos en este último valor que es equivalente al empleado en este estudio es casi la mitad del reportado. (ELIKA , 2006)

Si se coteja los resultados alcanzados en este estudio (46%) se observa un porcentaje similar al reportado en otras poblaciones de América, como el obtenido en ciudades de Argentina (Buenos Aires, Córdoba y Entre Ríos) entre los años 2009-2010 por Velilla, et al, con una prevalencia del 47,5% (Velilla , et al, 2011) y al realizado en Guatemala en el año 2006 por Calderón con una prevalencia del 40%, aunque estos estudios se efectuaron con los contenidos de ciegos y los macerados de órganos en lotes de pollo de engorde, el primero y en carne y vísceras de pollo, el segundo (Calderón, 2006).

En otros países del mundo también se han encontrado resultados similares, como el obtenido en Italia en el año 2008 por Di Giannatale et al, con una prevalencia del 46,3% en carcasas de pollos (Di Giannatale, et al, 2010) o al reportado en Irán en el año 2008 por Rahimi y Tajbakhsh, con una prevalencia del 56,1% (Rahimi & Tajbakhsh, 2008).

Se han realizado estudios en muestras de aves de corral en mercados de otras ciudades, obteniéndose resultados variables, como es el conseguido por Giacoboni et al. en el año 1999, en un estudio realizado en menudos y carcasas de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de La Plata (Argentina), en el cual se obtuvo una prevalencia del 35,8% (Giacoboni, et al, 1999), al obtenido por Lucas et al en el año 2013 en un estudio realizado en canales y ciegos de pollos de engorde en tres centros de acopio de la ciudad de Lima (Perú), en el cual se obtuvo una prevalencia del 16,7% (Lucas, et al, 2013) y al reportado por Vázquez en el año 2015 en pollo a la venta en el mercado de la Comarca Lagunera, con una prevalencia del 74% en pollo fresco (Vázquez Sandoval, 2015).

La prevalencia podría variar en diferentes países dependiendo del tipo de estudio, del método de detección empleado y del tipo de muestra de aves de corral tamizada. Así en otros artículos publicados encontramos resultados diferentes, como los obtenidos en Senegal (2001-2002) por Cardinale et al, con el 81,6% (Cardinale, et al, 2002), en Colombia (2006) por Castañeda, con el 9,7% (Castañeda, 2006) y, en Croacia (2009) por Granić et al con el 66,6% (Granić, et al, 2009).

Son escasas las investigaciones realizadas por la técnica Simplate® Campylobacter en aves de corral, sin embargo existe un estudio efectuado en Rio Grande Do Sul (Brasil) en el año 2014 en canales, cortes y menudos de pollos en el cual se obtuvo una prevalencia general del 34% y para carcasas específicamente del 43,24% (Mulinari, et al, 2014). En otro estudio similar llevado a cabo en Minas Gerais (Brasil) en el año 2007 en canales y cortes de pollo se obtuvo una prevalencia del 53,3% en canales (De Liguori Oliveira & Batitucci Passos de Oliveira, 2007)

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente investigación: “Estudio de la presencia de *Campylobacter spp* en carcasas de pollos frescos, provenientes de los mercados “El Arenal” y “10 de Agosto”, es posible plantear las siguientes conclusiones con respecto a las 75 muestras analizadas:

Se obtuvo un total de 33 muestras positivas para *Campylobacter spp*, a partir del método Simplate®, lo que representa un 44,0% del universo de la muestra y 42 muestras negativas que representa el 56,0%. Considerando este resultado se rechaza la hipótesis planteada al inicio de la investigación en la cual se propuso una prevalencia inferior al 10% para *Campylobacter*.

De las 35 muestras adquiridas en el mercado El Arenal 19 resultaron positivas para *Campylobacter* lo que equivale al 25,33%, mientras que de las 40 muestras adquiridas en el mercado 10 de Agosto, en 14 hubo cambio colorimétrico por el método Simplate®, que corresponde al 18,67%. De éstos resultados se concluye que existe mayor contaminación en el primer mercado, y algunas razones podrían deberse a que, por un lado no manejan el alimento con buenas prácticas de higiene y por otro a que no mantienen el producto refrigerado, como si ocurre en el segundo mercado. Estos motivos podrían ser un desencadenante para que exista un mayor porcentaje de pollos contaminados.

A su vez, según el lugar de procedencia de las muestras, la mayor proporción de casos provino de la parroquia Baños con 19 muestras positivas (25,33%), seguido de la parroquia Jima (Sigsig) con 9 muestras positivas (12%) y Santa Isabel con 5 muestras positivas (6,67%).

Simplate® *Campylobacter* es un método colorimétrico fácil, rápido y menos costoso que el método tradicional puesto que no necesita un enriquecimiento previo seguido de cultivo en medios selectivos y pruebas bioquímicas de confirmación, ya que está diseñado para identificar cepas de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* según la técnica del número más probable (NMP) con un rango de 1 a 738 UFC/mL. Además al ser específico se evita la problemática de las condiciones de crecimiento, la aparición simultánea de diversa flora acompañante que dificulta la identificación y los recuentos bacterianos generalmente bajos en el material a ser examinado que en ocasiones dan resultados negativos, como ocurrió en este caso que al sembrar en agar sangre con suplemento de Skirrow dio un recuento menor de *Campylobacter* (30,67%) con respecto al método Simplate® (44%).

Al no contar con una norma nacional ni internacional en la cual se establezca un límite máximo permitido de *Campylobacter spp* en pollos se tomó como referencia la recomendación de la Comisión de las Comunidades Europeas 2004/24/CE (D.O.C.E. 19/12/03) para el programa de control oficial de productos alimenticios en el que establece como límite para *Campylobacter* termófilo: “Carne fresca de aves de corral (gallinas ponedoras, pollos y pavos de engorde): **Ausencia en 25 g**”. Esta información es trascendental para poner en alerta a las autoridades sanitarias para que se efectúen inspecciones y controles en mercados de la ciudad con el fin de evaluar la seguridad bacteriológica de la carne de aves de corral.

Por otro lado y teniendo conocimiento que en países desarrollados *Campylobacter* causa un mayor caso de intoxicaciones alimentarias que *Salmonella* es muy importante tener en consideración tanto en el hogar como en la industria alimentaria o de preparación de alimentos que *Campylobacter* puede extenderse de dos formas esencialmente: por contaminación cruzada y a través del pollo mal preparado. En el primer caso lavar el pollo podría hacer que se extienda la bacteria en manos, superficies, ropa y equipamiento de cocina al salpicar el agua o a través de utensilios contaminados podría a su vez contaminar otros alimentos. En el segundo caso, si la temperatura de cocción no alcanza los niveles adecuados para inactivar la bacteria, de igual manera podría desencadenar en una intoxicación alimentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. (Mayo de 2011). Campylobacter, el agente más común en las intoxicaciones alimentarias. *ACSA brief Riesgos Emergentes*. Recuperado el 04 de Junio de 2015, de www.gencat.cat/salut/acsa
- Biocontrol. (2010). *Estados Unidos Patente nº 5,700,655; 5,985,594;6,287,797;6,509,168*.
- Calderón, E. (Octubre de 2006). Determinación De Campylobacter Sp En La Carne, Vísceras, Y Heces, De Pollos De Engorde De Un Rastro Artesanal En La Ciudad Capital De Guatemala. *Tesis Presentada A La Honorable Junta Directiva De La Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia De La Universidad De San Carlos De Guatemala*. Guatemala: Universidad De San Carlos De Guatemala, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Escuela De Medicina Veterinaria.
- Cardinale, et al. (2002). Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter Strains Isolated from Chicken Carcasses in Senegal. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 55 (4), 259-264.
- Cardinale, et al. (2002). Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter Strains Isolated from Chicken Carcasses in Senegal. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 55 (4), 259-264.
- Castañeda, S. (2006). Prevalencia de campylobacter Jejuni en pollo y gallina en canal en Bogotá, D. C . *LILACS*.
- Centers for Disease Control and Prevention. (03 de Junio de 2014). *National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases*. Recuperado el 05 de Mayo de 2015, de Campylobacter: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/>
- Cevallos Almeida, M. B. (15-18 de Octubre de 2008). *Campylobacter jejuni Problemática actual y situación en Ecuador Campylobacter jejuni en alimentos de origen animal*. Universidad Alas Peruanas. Docente. Bacteriología y Micología, Quito.
- Cevallos Almeida, M. B. (2008). *Campylobacter jejuni Problemática actual y situación en Ecuador Campylobacter jejuni en alimentos de origen animal*. Universidad Alas Peruanas. Docente. Bacteriología y Micología, Quito.
- Chavarrías, M. (20 de Octubre de 2008). Menos Campylobacter en pollos. *Eroski Consumer*. Recuperado el 20 de Abril de 2015, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2008/10/20/180858.php>
- De Liguori Oliveira, A., & Batitucci Passos de Oliveira, R. (2007). *USO DE METODO RÁPIDO PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE Campylobacter spp. TERMÓFILOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO E CORTES NO ESTADO DE MINAS GERAIS*. MINAS GERAIS.
- Di Giannatale, et al. (Enero de 2010). Prevalence of thermotolerant Campylobacter in broiler flocks and broiler carcasses in Italy. *VETERINARIA ITALIANA*, 46(4).
- Diario El Universo. (12 de Mayo de 2014). Consumo de pollo subió cinco veces más frente a 1990. Obtenido de

<http://www.eluniverso.com/noticias/2014/05/12/nota/2951971/consumo-pollo-subio-cinco-veces-mas-frente-1990>

- El Productor. (26 de Agosto de 2013). *El consumo de pollos subió 47% en 6 años*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2015, de <http://elproductor.com/2013/08/26/el-consumo-de-pollos-subio-47-en-6-anos/>
- ELIKA . (Noviembre de 2006). *Campylobacter Jejuni en carne de aves*. Recuperado el 20 de Junio de 2015, de Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria.
- Fernández Jaramillo, H. (2008). *Campylobacter y microorganismos relacionados Campylobacter y Arcobacter: Bacterias zoonóticas de importancia médica transmitidas por alimentos; Chile*. Instituto de Microbiología Clínica. Universidad Austral de Chile; Microbiología Clínica. Quito: Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM); Sociedad Ecuatoriana de Microbiología (SEM).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. (2009). *Salmonella and Campylobacter in chicken meat: Meeting report*. Roma: Microbiological Risk Assessment. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?id=6Zv_aJyE5AQC&printsec=frontcover&dq=CAMPYLOBACTER&hl=es&sa=X&ei=uAnVVlvJEYXmsASlq4KAAg&ved=0CE4Q6AEwCA#v=onepage&q=CAMPYLOBACTER&f=false
- Food Standards Agency. (14 de Septiembre de 2015). *CAMPYLOBACTER JEJUNI: Riesgos biológicos*. Obtenido de http://www.elika.eus/es/riesgos_biologicos.asp?id=22&id_noti=1841#ancla1841
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2009). *Bailey & Scott DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO* (Doceava edición ed.). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria. (28 de Febrero de 2013). Límites Legales. *Campylobacter*. Álava: ELIKA. Obtenido de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento83/2.Campylobacter.pdf
- Giacoboni, et al. (1999). CAMPYLOBACTER TERMOTOLERANTES EN MENUDOS Y CARCASAS DE POLLOS PROVENIENTES DE DIFERENTES COMERCIOS DE LA CIUDAD DE LA PLATA (ARGENTINA). *ANALECTA VETERINARIA*, 19(1/2), 51-54.
- Giovaniello, et al. (2006). Koneman Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas en color. En L. Williams, & Wilkins, *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (Sexta ed., pág. 376). Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Granić, et al. (2009). Determination of Campylobacter spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. *VETERINARSKI ARHIV*, 79(5), 491-497.
- Hartnett, et al. (2009). Evaluación de riesgos de Campylobacter spp. en pollos para asar, Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos. Roma: FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization).
- Instituto de Salud Pública de Chile. (Enero de 2014). Vigilancia de laboratorio de Campylobacter spp. Chile, 2005 – 2013. *IV*(1).

- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Ministerio de Salud de Argentina. (2001). *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS CAMPYLOBACTER*. (C. p. Enfermedades, Ed.) Buenos Aires: Subsecretaría de Investigación y Tecnología. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Departamento Bacteriología.
- Instituto Nacional de Salud de Colombia. (2013). *PERFIL DE RIESGO DE Campylobacter spp. EN POLLO DE ENGORDE*. Bogotá: Instituto Nacional de Salud –INS Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos –UERIA– Ministerio de Salud y Protección Social Bogotá D.C.
- Lucas, et al. (Agosto de 2013). Presencia de campylobacter spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(3). Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172013000300011&script=sci_arttext&tlng=pt
- Manopas , A. (2011). *Vergleich des SimPlate™ Campylobacter CI-Systems mit dem kulturellen Standardverfahren zum Nachweis von Campylobacter spp*. Berlín: Instituto de Higiene de los Alimentos de la Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Libre de Berlín.
- MARTÍN DE SANTOS, R. (2010). *Métodos rápidos y automatizados aplicados al análisis microbiológico de los alimentos*. (Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos) Recuperado el 20 de 08 de 2015, de <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/download/1108/1125>.
- Maurer, A., & Luck, T. (16 de Febrero de 2003). *Madrid Patente nº ES 2 181 046 T3*.
- Mulinari, et al. (2014). Enumeração de Campylobacter em carcaças, cortes e miúdos de frango produzidos no Rio Grande Do Sul. *Caderno pedagógico, Lajeado, XI(1)*, 91-98.
- Organización Mundial de la Salud. (01 de Octubre de 2011). *Media Centre*. Recuperado el 05 de Mayo de 2015, de *Campylobacter*: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>
- Pascual Anderson, M. d. (2005). *ENFERMEDADES DE ORIGEN ALIMENTARIO Su prevención*. España: Editorial Díaz de Santos. Obtenido de <https://books.google.com.ec/books?id=zy0hd4zDL78C&pg=PA35&dq=CAMPYLOBACTERIOSIS+POLLO&hl=es&sa=X&ei=quTUVKGJF4acNpTjgxxg&ved=0CCAQ6AEwAQ#v=onepage&q=CAMPYLOBACTERIOSIS%20POLLO&f=false>
- Rahimi, E., & Tajbakhsh, E. (2008). PREVALENCE OF CAMPYLOBACTER SPECIES IN POULTRY MEAT IN THE ESFAHAN CITY, IRAN. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, XI(4)*, 257-262.
- Revista el Agro. (2012). Análisis de la Avicultura en Ecuador. Obtenido de <http://www.revistaelagro.com/2014/09/23/analisis-de-la-avicultura-en-ecuador/>
- Romero Cabello, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (Tercera edición ed.). México: Editorial Médica Panamericana.

- Sánchez, et al. (2011). *PATÓGENOS EMERGENTES EN LA LÍNEA DE SACRIFICIO DEL PORCINO FUNDAMENTOS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA*. Madrid: Editorial Díaz de Santos S.A.
- SINAGAP-MAGAP. (2014). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. (Coordinación General del Sistema de Información Nacional) Recuperado el 3 de Septiembre de 2015, de Censos y Encuestas: ÍNDICE DE TABLAS DE SALIDA DEL CENSO AVÍCOLA ECUATORIANO 2006: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/avicola>
- Smith , & Townsend. (Diciembre de 1999). A new medium for determining the total plate count in food. *Journal of Food Protection*, 62(12). Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10606144>
- Vázquez Sandoval, H. (2015). *DETERMINACION DE CAMPYLOBACTER spp EN POLLO A LA VENTA EN LA COMARCA LAGUNERA DURANTE LA ESTACION DE VERANO*. Tesis , Universidad Autónoma Agraria Unidad Laguna, División Regional de Ciencia Animal, Torreón. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/6934>
- Velilla , et al. (2 de Septiembre de 2011). Campylobacter Coli y C. Jejuni aislados de pollos de engorde en Argentina. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Balcarce, Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Producción Animal.
- Walderhaug, M. (2012). *Bad Bug Book Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins* (Segunda Edición ed.). (K. A. Lampel, Ed.) Createspace Independent Pub. Recuperado el 20 de Abril de 2015, de <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/Foodbornellness/FoodbornellnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>
- WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. (2008). CAMPYLOBACTER JEJUNI AND CAMPYLOBACTER COLI. En *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines* (Vol. II, págs. 1185-1191).

ANEXOS

ANEXO 1

Recursos Materiales

EQUIPO	MARCA	MODELO
Estufa bacteriológica	WTB BINDER	TYP B15 N° 89060
Tuttnauer autoclave-steam sterilizer	TUTTNAUER	2540 MLV
Cabina de flujo laminar	ESCO	AVC-4D2
Destilador de agua	FANEM	724
Balanza analítica	OHAUS	SCOUT PRO SP 400
Microscopio binocular	OLYMPUS	CH.2
Refrigeradora	INDURAMA	Cromado doble puerta
Cámara Ultravioleta	Caja UV visible	-

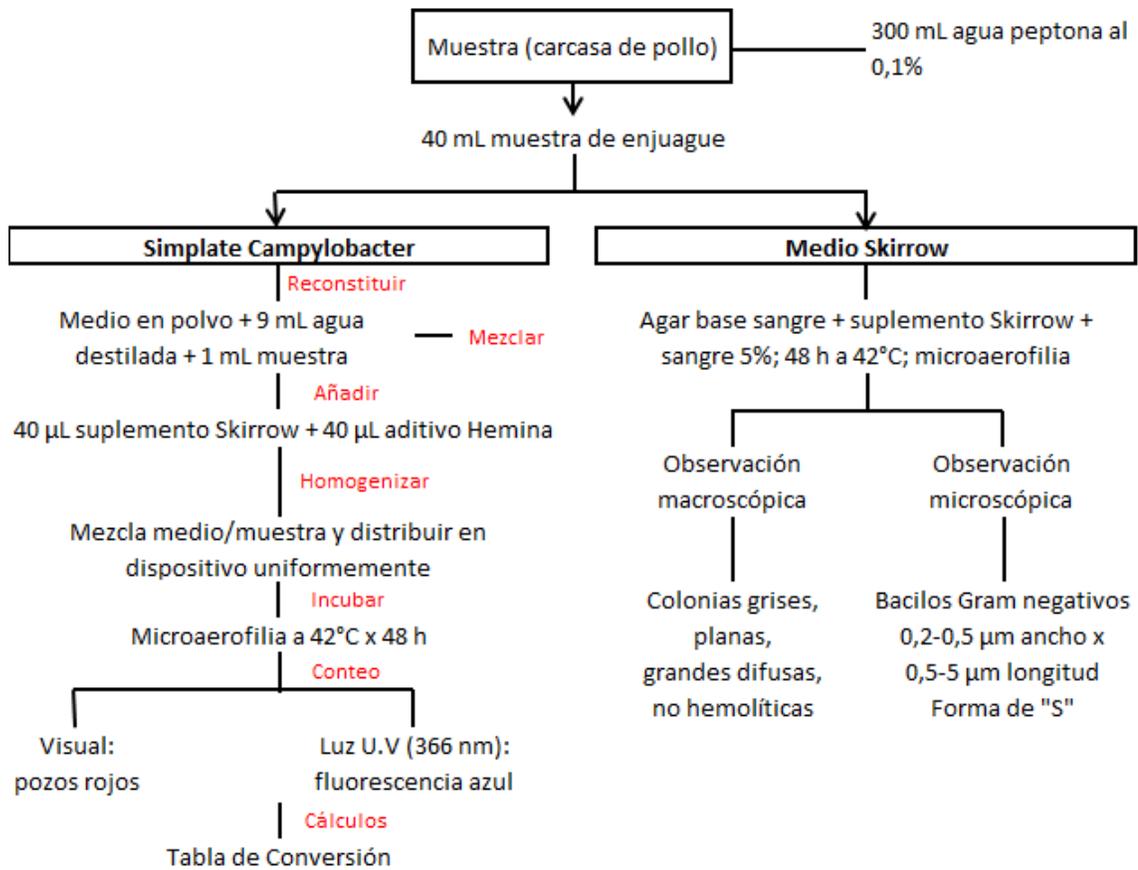
REACTIVO	MARCA	PROVEEDOR
Simplate® Campylobacter	Biocontrol®	QUIMIEM
Agar base sangre	Himedia®	DILAMED
Suplemento Selectivo para Campylobacter (SKIRROW)	Oxoid®	DILAMED
Bolsas para microaerofilia Campygen® 2,5 L	Oxoid®	DILAMED
Agua de peptona	Hardy®	DILAMED
Set de reactivos para tinción de Gram	PROMECLIN®	PROMECLIN
Sangre estéril desfibrinada		
Agua destilada estéril		
Aditivo Hemina		
Aceite de inmersión		

MATERIALES VARIOS	MARCA
Jarras de Gaspak	
Frascos de 250 y 500 ml	SCHOTT DURAN
Probeta de 500 mL	SUPERIOR
Erlenmeyers de 500 mL	BOECO
Cajas bi-petri descartables 90 mm x 15 mm	PROQUIMICA
Pipetas automáticas de 10 μ L – 100 μ L y 100 – 1.000 μ L	LABMATE SOFT
Placas portaobjetos 25,4 x 76,2 mm	VOIR
Laminillas cubreobjetos 22 x 22 mm	
Pipetas serológica de 10 mL	
Lámpara de alcohol	
Recipientes estériles	
Asa bacteriológica	
Material de limpieza	

ANEXO 2

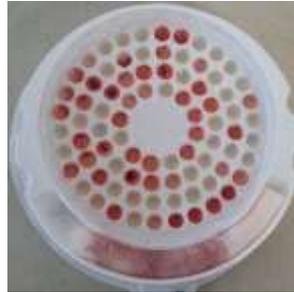
Protocolo para la identificación de *Campylobacter* spp

Figura N° 5: Protocolo para la identificación de *Campylobacter* spp



ANEXO 3

Simplate® Campylobacter



Simplate® Campylobacter se utiliza para la detección y cuantificación de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* en enjuagues de aves de corral y carne. La siembra se realiza en el centro de un reservorio en el que se dispensa 1 mL de la muestra de alimento y 9 mL del medio líquido rehidratado. La mezcla medio/muestra se dispensa en el dispositivo SimPlate® y se incuba durante 48 h. El medio cambia de color en presencia de *Campylobacter*. El recuento se determina contando los pozos con el color cambiado y en referencia a la Tabla de conversión SimPlate®. (MARTÍN DE SANTOS, 2010)

<p>Figura 1</p> 	<p>Figura 2</p> 	<p>Figura 3</p> 	<p>Figura 4</p> 
<p>Verter la mezcla muestra/medio en el centro de la placa.</p>	<p>Tapar la placa, agitar suavemente para distribuir la muestra en todos los pocillos.</p>	<p>Tocar suavemente la placa sobre una superficie dura para eliminar burbujas de aire.</p>	<p>Sostener la cubierta, inclinar la placa hacia usted para permitir que el líquido drene.</p>
<p>Tabla N° 5: Procedimiento Simplate® Campylobacter. Biocontrol 2010</p>			

Lectura e interpretación de los resultados

(a) Después de la incubación, observar líquido de color rojo en los pocillos. Contar todos los pocillos rojos (la intensidad del color puede variar).

Algunos pocillos pueden estar rodeados por un anillo de color rojo o contener partículas de color rojo en el fondo del mismo. Esto es aceptable. Todos los pocillos rojos son presuntos positivos para *Campylobacter*.

(b) Contar el número de pocillos de color rojo que presentan fluorescencia azul mediante la observación con luz UV (366 nm de longitud de onda) de aproximadamente 5 cm (2 pulgadas) por encima del dispositivo SimPlate®. Ocasionalmente, puede haber pocillos que no son de color rojo, pero emiten fluorescencia. **No** cuente éstos ya que no son presuntivos para *Campylobacter*.

(c) Para determinar la población, realice los siguientes cálculos:

(1) Cuente el número de pocillos de color rojo en la placa.

(2) Reste el número de pocillos rojos fluorescentes de la etapa (b) (pozos fluorescentes confirman los resultados negativos) para determinar resultados positivos confirmados para *Campylobacter*.

(3) Utilice la Tabla de Conversión SimPlate® para determinar el número total de microorganismos por placa. (Estados Unidos Patente nº 5,700,655; 5,985,594; 6,287,797; 6,509,168, 2010)

Figura N° 6: Tabla de Conversión SimPlate®

SimPlate®

**Normal Counting Range
(NCR) Conversion Table**

No. of positive wells = population per plate*

1 = 2	29 = 70	57 = 190
2 = 4	30 = 74	58 = 196
3 = 6	31 = 76	59 = 202
4 = 8	32 = 80	60 = 208
5 = 10	33 = 84	61 = 216
6 = 12	34 = 86	62 = 224
7 = 14	35 = 90	63 = 232
8 = 16	36 = 94	64 = 240
9 = 18	37 = 96	65 = 248
10 = 22	38 = 100	66 = 256
11 = 24	39 = 104	67 = 266
12 = 26	40 = 108	68 = 276
13 = 28	41 = 112	69 = 288
14 = 30	42 = 116	70 = 298
15 = 32	43 = 120	71 = 312
16 = 36	44 = 124	72 = 324
17 = 38	45 = 128	73 = 338
18 = 40	46 = 132	74 = 354
19 = 42	47 = 136	75 = 372
20 = 46	48 = 142	76 = 392
21 = 48	49 = 146	77 = 414
22 = 50	50 = 150	78 = 440
23 = 54	51 = 156	79 = 470
24 = 56	52 = 160	80 = 508
25 = 58	53 = 166	81 = 556
26 = 62	54 = 172	82 = 624
27 = 64	55 = 178	83 = 738
28 = 68	56 = 184	84 = >738

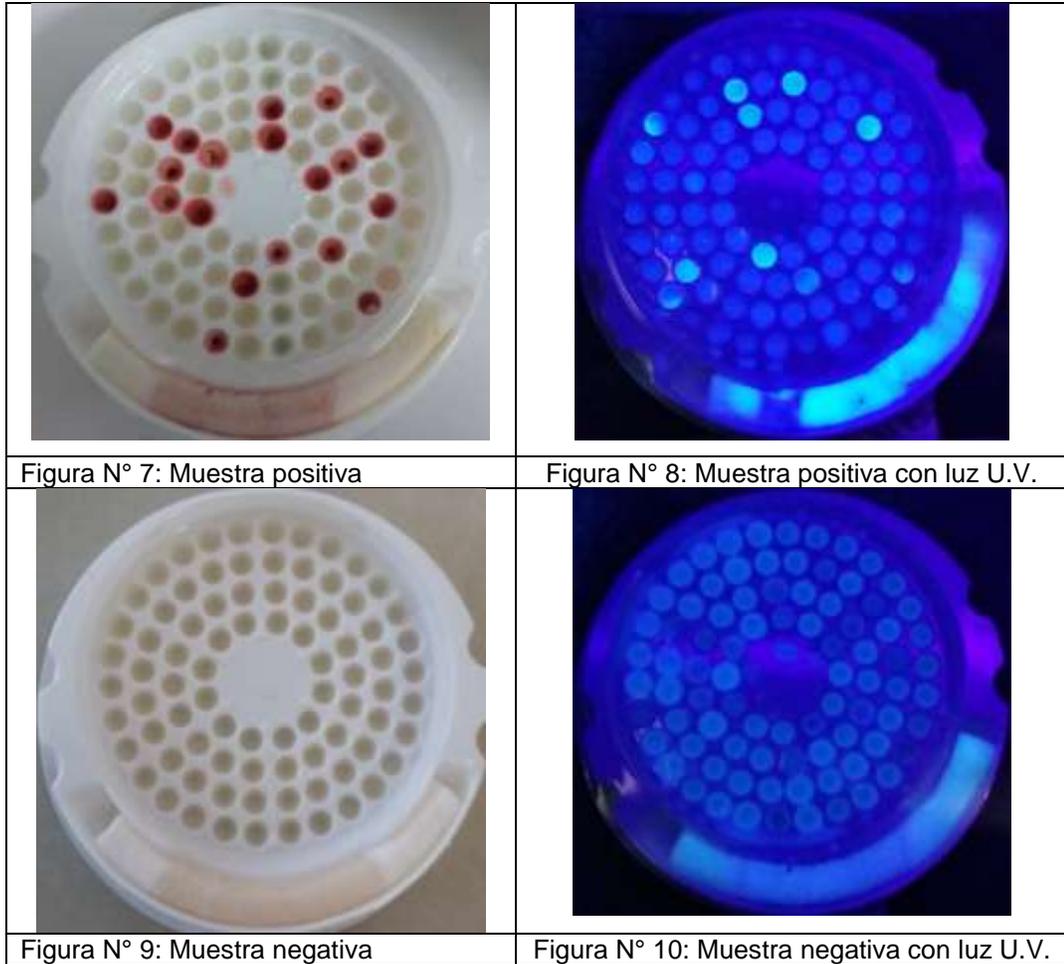
If there are no positive wells, and the sponge is positive, population is 1.

If there are no positive wells, and the sponge is negative, population is < 1.

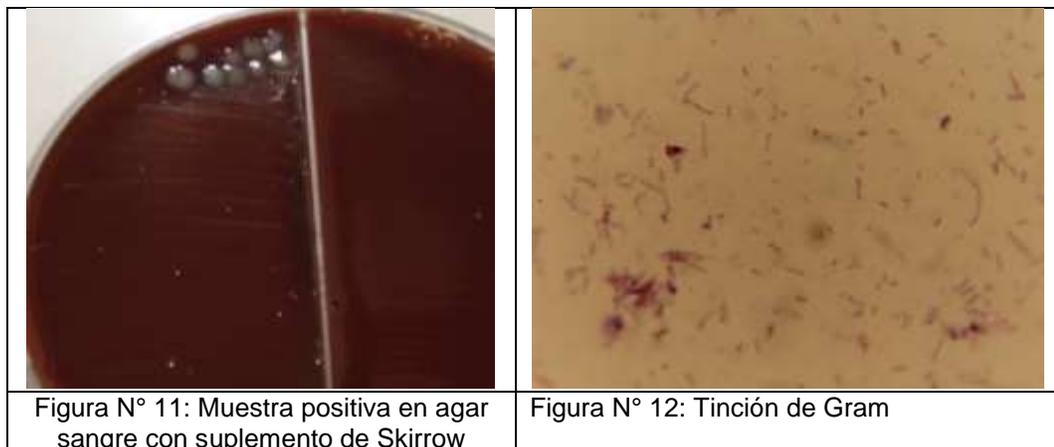
* The population reflects the number of microorganisms per plate. To determine the number of microorganisms per gram (mL) food product, see Reading and Interpretation section in directions for use.

ANEXO 4

Resultados obtenidos con el método Simplate®



Otros:



ANEXO 5

Datos generales

Tabla N° 6: Datos Generales							
Cód. muestra	Lugar adquisición muestras	Procedencia muestras	Fecha recolección muestras	Cultivo Skirrow	Simplate®		
					Pocillos rojos (+)	Pocillos U.V. (+)	Resultado (N.M.P)/mL
1	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
2	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(+)	84	4	508
3	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(+)	83	10	338
4	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(+)	83	2	556
5	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(+)	84	15	288
6	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
7	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(-)	15	4	24
8	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
9	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(-)	1	1	<1
10	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(+)	80	6	354
11	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(+)	84	13	312
12	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
13	El Arenal	Jima-Sigsig	07-Sep-15	(+)	72	9	232
14	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
15	El Arenal	Baños	07-Sep-15	(-)	0	0	<1
16	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
17	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
18	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	8	1	14
19	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
20	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
21	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
22	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	1
23	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
24	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
25	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(+)	13	0	28
26	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
27	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	5	3	4
28	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	1

Cód. muestra	Lugar adquisición muestras	Procedencia muestras	Fecha recolección muestras	Cultivo Skirrow	Simplate®		
					Pocillos rojos (+)	Pocillos U.V. (+)	Resultado (N.M.P)/mL
29	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	44	0	124
30	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	61	5	184
31	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
32	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
33	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
34	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
35	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(+)	10	0	22
36	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	2	1	2
37	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	84	5	470
38	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	1
39	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	16	1	32
40	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
41	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
42	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	54	2	160
43	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
44	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	1	1	<1
45	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
46	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	1	0	2
47	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	30	8	10
48	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
49	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	58	1	190
50	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(+)	84	15	288
51	10 de Agosto	Santa Isabel	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
52	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(+)	77	3	354
53	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
54	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	2	0	4
55	10 de Agosto	Baños	09-Sep-15	(-)	0	0	<1
56	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(+)	48	22	62
57	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	0	0	<1
58	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	11	0	24
59	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	5	3	4
60	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(+)	54	16	100
61	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	0	0	1

Cód. muestra	Lugar adquisición muestras	Procedencia muestras	Fecha recolección muestras	Cultivo Skirrow	Simplate®		
					Pocillos rojos (+)	Pocillos U.V. (+)	Resultado (N.M.P)/mL
62	El Arenal	Santa Isabel	14-Sep-15	(-)	78	4	354
63	El Arenal	Santa Isabel	14-Sep-15	(-)	0	0	<1
64	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	1	1	<1
65	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(+)	21	0	48
66	El Arenal	Jima-Sigsig	14-Sep-15	(-)	0	0	<1
67	El Arenal	Jima-Sigsig	14-Sep-15	(+)	30	0	74
68	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	1	1	<1
69	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	0	0	<1
70	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(+)	50	5	128
71	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(-)	17	12	10
72	El Arenal	Baños	14-Sep-15	(+)	83	9	354
73	El Arenal	Jima-Sigsig	14-Sep-15	(-)	4	3	2
74	El Arenal	Jima-Sigsig	14-Sep-15	(-)	0	0	<1
75	El Arenal	Jima-Sigsig	14-Sep-15	(-)	21	4	38