

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Escuela de Formación Profesional

De Ciencias Biológicas

**“PRESENCIA DE CAMPYLOBACTER TERMOTOLERANTE EN
CARNE CRUDA DE POLLOS QUE SE EXPENDEN EN MERCADOS
DE IQUITOS”**

TESIS

Para optar el título profesional de

BIÓLOGO

Autora:

TANIA JAIRA LOZANO CAMACHO

IQUITOS – PERÚ

2016

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



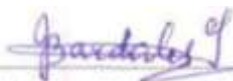
Blga. Teresa de Jesús Mori del Aguila, M.Sc.

Presidente



Blga. Mildred García Dávila, Dra.

Miembro



Blga. Julia Bardales García, M.Sc.

Miembro

ASESOR



Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos, M.Sc.

Asesor

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



UNAP

Dirección de Escuela
Profesional de Biología - FCB

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Iquitos, 20 de setiembre de 2011



En la ciudad de Iquitos, a los veinte días del mes de setiembre del 2011 y siendo las 11:30 a.m. horas; se reunió en el Auditorio de SECEDO, el Jurado Calificador y Dictaminador de Tesis que suscribe, designado con R.D. N° 100-2007-DEFP-B-FCB-UNAP presidido e integrado por: **Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL ÁGUILA, M.Sc. Presidenta; Blga. JULIA BARDALES GARCÍA, M.Sc. Miembro, Blga. MILDRED MAGDALENA GARCÍA DÁVILA, Mgr. Miembro;** para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: **"PRESENCIA DE CAMPYLOBACTER TERMOTOLERANTE EN CARNE CRUDA DE POLLOS QUE SE EXPENDEN EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE IQUITOS"**; realizado por la Br. en Ciencias Biológicas de la FCB-Escuela de Biología, **Tania Jaira Lozano Camacho** de la Promoción II-2001, graduada de Bachiller con R.R. N° 0562-2002-UNAP de fecha 05 de marzo del 2002.



Luego de realizada la sustentación de la Tesis, la bachiller fue sometida a un interrogatorio sobre el tema en cuestión, habiendo absuelto de manera SATISFACTORIA las observaciones y objeciones que fueron formuladas por los integrantes del Jurado Calificador y Dictaminador.



Después de la deliberación y votación del caso, el Jurado Calificador y Dictaminador dió como veredicto APROBAR la Tesis por UNANIMIDAD, quedando la candidata apta para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del Título Profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalizado el acto, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 12:50 p.m. horas y en fe de lo cual, todas las integrantes suscriben la presente Acta de Sustentación por triplicado.


Teresa de Jesús Mori Del Águila
PRESIDENTA


Julia Bardales García
MIEMBRO


Mildred Magdalena García Dávila
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis padres María Julia Camacho Bardalez y

Moisés Lozano Mego por su

constante

apoyo en cada paso de mi vida.

A mis hijos y mi esposo que me

alegran y me impulsan

con su amor.

A Dios por escuchar

mis oraciones

AGRADECIMIENTO

Expreso mi agradecimiento al proyecto de investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas- UNAP “Cultivo de *Campylobacter* termotolerantes empleando sangre de vacuno y porcino e influencia del pH y tiempo de incubación sobre su capacidad hemolítica” en la persona del Dr. Álvaro Tresierra Ayala por su colaboración y apoyo a esta investigación.

Al Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana por las facilidades brindadas para la realización de esta tesis.

Al Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos por su asesoramiento y acertados consejos en la conducción de la presente tesis.

Al Blgo. Carlos Dávila por su amable colaboración.

Al Sr. Manuel del Águila por su capacidad de servicio.

CONTENIDO

	Pág.
JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR	ii
ASESOR.....	iii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
CONTENIDO.....	vii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ANEXOS	x
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1. Materiales	8
3.2. Métodos.....	11
3.2.1. Área de estudio	11
3.2.2. Población y muestra.....	11
3.2.3. Obtención de la muestra.....	12
3.2.4. Análisis de laboratorio.....	13
3.2.5. Análisis e interpretación de los resultados	14
IV. RESULTADOS.....	15
4.1. Identificación de especies de <i>Campylobacter</i> termotolerantes a partir de colonias sospechosas aisladas de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados de Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos	15
4.2. Determinación de la frecuencia de especies de <i>Campylobacter</i> termotolerantes aislados de carne cruda de pollos dispuesta para la venta	17
4.3. Diferencias entre la tasa de aislamiento de especies de <i>Campylobacter</i> termotolerantes de los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos	20
V. DISCUSIÓN	22
VI. CONCLUSIONES.....	26
VII. RECOMENDACIONES.....	27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	28
ANEXOS.....	32

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 01. Aislamiento de <i>Campylobacter</i> termotolerante en carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de Iquitos.	15
Tabla N° 02. Test de Proporciones para <i>Campylobacter</i> termotolerante entre los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.	17
Tabla N° 03. Frecuencia de aislamiento de especies de <i>Campylobacter</i> termotolerantes de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.	18
Tabla N° 04. Test de Proporciones para <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Campylobacter coli</i> entre los mercados Belén y Modelo.	20

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 01. Porcentaje de <i>Campylobacter</i> termotolerante aislado de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.....	16
Figura N° 02. Frecuencia de aislamiento de las especies <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Campylobacter coli</i> obtenidas de carne cruda de pollos que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.....	18
Figura N° 03. Porcentaje de prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerante en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.	19
Figura N° 04. Proporción total de las especies de <i>Campylobacter</i> termotolerante de las muestras de carne de pollo que se tomaron en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.	21

LISTA DE ANEXOS

Anexo N° 01. Información de los 9 puestos muestreados muestras obtenidas en cada uno de ellos.	32
Anexo N° 02. Colonias de <i>Campylobacter</i> spp. en Agar Skirrow.	33
Anexo N° 03. Flujograma de aislamiento e identificación de <i>Campylobacter</i> termotolerante.	33
Anexo N° 04. Pruebas utilizadas para diferenciar las especies de <i>Campylobacter</i> propuesta por Lior (1984).	35
Anexo N° 05. Puesto de venta del mercado Modelo de la ciudad de Iquitos.	36
Anexo N° 06. Puesto de venta del mercado Belén de la ciudad de Iquitos.	37

RESUMEN

En el presente estudio se analizaron 128 muestras de carne de pollo para el consumo humano provenientes de los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos, con la finalidad de determinar la presencia de *Campylobacter* termotolerantes. Se utilizó 20 g de carne de pollo la cual fue enriquecida en 20 ml de TEC (medio de transporte y enriquecimiento para *Campylobacter*) e incubadas a 36°C en microaerofilia, después de 6 horas se tomó una asada del caldo TEC y se sembró por agotamiento en placas de Agar Skirrow modificado e incubadas durante 48 horas a 42°C en condiciones de microaerofilia durante 48 horas y para identificar la especie se utilizó el esquema propuestos Lior (1984). Se aisló *Campylobacter* spp. en 21.1% del total de las muestras, correspondiendo el 13.9% al mercado Belén y 30.4% al mercado Modelo. Así mismo se encontró una prevalencia de *Campylobacter jejuni* del 11.7%, de las cuales 8.3% correspondieron al mercado Belén y 16.1% al mercado Modelo, en tanto que el aislamiento de *Campylobacter coli* fue del 9.4%, de ellas 5.6% correspondieron al mercado Belén y 14.9% al mercado Modelo.

Se concluye que *Campylobacter* termotolerantes se encontró presente en 21.1% de las muestras de carne cruda de pollos que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

I. INTRODUCCION

La campylobacteriosis se ha presentado como una importante enfermedad zoonótica, que afecta a un amplio rango de animales silvestres y domésticos, especialmente aviares y mamíferos. Los agentes causales de esta enfermedad son las clásicas bacterias termotolerantes del género *Campylobacter*, estas bacterias tienen como reservorios naturales mamíferos y aves, siendo agentes causales de enteritis en el hombre las clásicas bacterias termotolerantes del género *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari*)¹.

Estudios epidemiológicos respecto a posibles agentes transmisores y/o reservorios de las especies termotolerantes de *Campylobacter*, han señalado a los animales domésticos como posibles fuentes de contaminación en individuos sanos. Dentro de estos, las especies aviares constituyen los principales reservorios de estas bacterias, especialmente las aves de corral, en las cuales se pueden encontrar en calidad de comensales o patógenos y comportarse como la principal fuente de contaminación para el ser humano, otros animales, alimentos y cuerpos de agua².

En nuestra ciudad las aves de corral tienen una gran demanda como fuente nutritiva en la población y esto se ve incrementado a nivel nacional, debido a la alta producción y al bajo costo de su carne y derivados de la misma, lo que le convierte en un alimento de consumo popular.

Así mismo, a nivel mundial dentro de las bacterias termotolerantes del género *Campylobacter* han sido reconocidos como importantes agentes causales de gastroenteritis, cuyos principales reservorios lo constituyen las aves de corral y los

mamíferos. En muchas regiones pese a mostrar una alta prevalencia de campylobacteriosis, el Servicio Nacional de Saneamiento Agrario (SENASA), organismo encargado de la vigilancia epidemiológica de la salud animal en el país, no considera dentro de sus análisis bacteriológicos la identificación de las clásicas especies de *Campylobacter* termotolerantes³; a pesar de reportarse una alta incidencia de aislamiento de esta bacteria en muestras diarreicas de seres humanos.

En consecuencia, la producción intensa de aves de corral en la ciudad de Iquitos sin un adecuado control sanitario, así como la gran demanda existente en el consumo de la carne de estos animales podría favorecer la persistencia de estos agentes en la población animal y en los individuos que manipulan dichos animales; por lo tanto, es importante que las aves destinadas al consumo pasen por un control de salubridad, desde los lugares de crianza hasta lugares de expendio para evitar la contaminación de la carne de pollo y sus productos. El conocimiento que se tenga respecto a la presencia de estas bacterias en la carne cruda de las aves de corral, contribuirá en la acción de prevención y control de esta zoonosis; por tal razón se ha considerado de importancia realizar el presente trabajo planteándose como objetivo general: determinar la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en carne cruda de pollos que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos, y como objetivos específicos: a) identificar especies de *Campylobacter* termotolerantes a partir de las colonias sospechosas aisladas de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados de Belén y Modelo de la

ciudad de Iquitos, b) determinar la frecuencia de especies de *Campylobacter* termotolerantes aislados de carne cruda de pollos dispuesta para la venta y c) determinar si existe diferencia entre la tasa de aislamiento de especies de *Campylobacter* termotolerantes de los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

En Inglaterra, encontraron una prevalencia de *Campylobacter jejuni* del 48% de pollos frescos obtenidos de puntos de venta minorista de la zona de Southampton, señalando que en el 61% de los casos la contaminación era de superficie⁴.

En Brasil determinaron la prevalencia de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en pollos obtenidos a partir de comercios minoristas de aves, observando una prevalencia de *Campylobacter* sp. del 13%, correspondiendo un 86% de *Campylobacter jejuni* y un 14% a *Campylobacter coli*⁵.

En Guadalajara (México) evaluaron la posible contaminación de pollos en una planta avícola, en la cual se analizaron 178 pollos; 60 fueron colectados inmediatamente después de la evisceración, 58 se tomaron a la salida del segundo tanque de enfriamiento y los 58 restantes se tomaron al final del proceso, cuando eran empacados, logrando aislar *Campylobacter* sp. de 44 (73.3 %) de los 60 pollos analizados inmediatamente luego de la visceración. Sin embargo, la bacteria no se detectó en ninguno de los 116 pollos restantes, esto es, en las etapas subsiguientes del proceso de destace y empaque⁶.

En Iquitos (Perú), se aisló cepas de *Campylobacter* termotolerantes en aves de corral, corroborando de esta manera que las aves de corral son portadoras de las clásicas bacterias *Campylobacter* termotolerantes, encontrándose la mayor tasa de aislamiento a nivel de pollo con 54.0%. Además se reportó que los biovares I y II de *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* fueron los más frecuentes aislados (12% y 11%) respectivamente⁷.

En una evaluación de aves y mamíferos en la zona peri-urbana de la ciudad de Iquitos (Perú), determinaron la prevalencia de *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari*, siendo los pollos los animales de mayor prevalencia con 54.0% y los cerdos con 44.0%, de los cuales *Campylobacter jejuni* spp. *Jejuni* fue positivo en 27 (50%), *Campylobacter coli* en 17 (31%) y *Campylobacter lari* en 10 (19%) en muestras de pollos⁸.

En la ciudad de Iquitos (Perú), estudiaron la frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* spp. En pollos domésticos y pollos mantenidos en confinamiento permanente. *Campylobacter* spp. fue aislado en 54.0% en el primer grupo y 35% en el segundo y las especies más frecuentes fueron *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*³.

En la ciudad de Valdivia (Chile) aislaron *Campylobacter* spp. de un total de 126 muestras de exudado de hígado congelado de pollo destinado a la venta comercial, de los cuales 117 (92.9%) fueron positivos para *Campylobacter* spp. y el 78.6% correspondió a *Campylobacter coli* y el 21.4% a *Campylobacter jejuni*².

En nueve provincias de Castilla y León (España), estudiaron 198 muestras de carne de pollo a la venta en establecimientos minoristas y supermercados entre los meses de febrero a diciembre de 1999, aislando 49.0% de *Campylobacter* termotolerantes de las muestras estudiadas⁹.

En la ciudad de La Plata (Argentina), procesaron 120 muestras de carcasas expandidas como menudencias en 4 comercios minoristas de pollos, donde el 43

muestras (35.8%) fueron positivos para *Campylobacter* termotolerantes, de los cuales *Campylobacter jejuni* fue positivo en un 35% y 0.8% para *Campylobacter coli* del total de muestras procesadas¹⁰.

En la provincia de Buenos Aires (Argentina), estudió la prevalencia de *Campylobacter jejuni* en pollos en etapa de cría (36 días de edad) y en pollos en etapa de faenar (75 días de edad), como en su carne dispuesta para la venta proveniente de una granja, encontrando una prevalencia en pollos de cría del 94%, en comparación con el 30 y 60% en carne aviar¹¹.

Se estudiaron muestras de pollos de diferentes zonas de productores de aves de corral en el sur de Brasil, y aislaron *Campylobacter* spp. de un total de 144 muestras de pollos colectados a partir de las camadas, pollos en jaulas de transporte, exudados, cloaca, pluma y pechuga, colectando 24 muestras para cada punto respectivamente, de los cuales *Campylobacter* spp. Fue encontrado en 79.2% de las muestras de plumas, de hisopados cloacal 75%, pollos en jaulas de transporte 50%, camadas 37.5%, pechugas 33% y exudados 25%¹².

En la ciudad de Szczecin (Polonia), se determinaron el nivel de contaminación de carne de pollo, bovino y porcino por *Campylobacter*, los cuales eran expeditas al menudeo en mercados, confirmando la presencia de *Campylobacter* en carne de pollo (73.8%), carne de porcino (66.7%) y carne de bovino (66%), siendo *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter cryoaerophilo* y *Campylobacter jejuni* las especies más dominantes en carne de pollo¹³.

En Guadalajara (México), observaron que las tasas más altas de recuperación de *Campylobacter* spp. , a partir de pollos dispuestos a la venta se dio en los meses calurosos (90%). En tanto en los meses de diciembre y enero estas cifras fueron más bajas (33%), también mencionan que alrededor del 95% de las infecciones por *Campylobacter* son causadas por *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* y la complicación más severa de la infección es una condición conocida como síndrome de Guillain-Barré y *Campylobacter jejuni* es el más frecuente agente asociado en estos casos¹⁴ .

Se compararon la prevalencia de *Campylobacter* en muestras diarreicas de niños atendidos en el Children Memorial Health Institute de Polonia y de carcasas de pollo obtenidos en supermercados y mataderos en varias regiones de Polonia, encontrando que de 80 muestras diarreicas 62 fueron positivas para *Campylobacter jejuni* y 18 para *Campylobacter coli* y con respecto a las 92 muestras de carcasas de pollo, 53 correspondieron a *Campylobacter jejuni* y 39 a *Campylobacter coli*¹⁵ .

En San Fernando en el Valle de Catamarca (Argentina), identificaron los principales géneros microbianos contaminantes de los canales de 120 pollos destinados al consumo humano, donde *Campylobacter* spp. Fue hallado en pequeña proporción (6.25%)¹⁶ .

En Francia, recuperaron *Campylobacter jejuni* de la superficie de los mataderos de aves de corral después de la limpieza y desinfección, concluyendo que esta bacteria es capaz de sobrevivir toda la noche en la superficie de los equipos de procesamiento¹⁷ .

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Material biológico

En este estudio se analizó carne cruda de pollo para consumo humano obtenida de los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

3.1.2. Equipos

- Autolave Austester Modelo 437-p.
- Congelador Friolux.
- Balanza analítica estándar Ohaus.
- Horno tipo L/P 0.302 – 303.
- Estufa Heraus.
- Baño María Thelco.
- Cocina eléctrica Citecil.
- Refrigeradoras Friolux y Coldex.

3.1.3. Medios de cultivo

- Medio de transporte y enriquecimiento para *Campylobacter* (T.E.C).
- Agar Skirrow modificado.
- Agar Casoy.
- Agar sangre.

3.1.4. Reactivos y Antibióticos

- Hipurato de Sodio, solución acuosa al 1%.
- Solución de ninhidrina al 3.5%.
- Piruvato de Sodio.
- Metasulfito de Sodio.
- Sulfato ferroso.
- Peróxido de Hidrógeno.
- Extracto de levadura.
- Fucsina carbolada de Ziehl.
- Etanol.
- Set de coloración Gram.
- Ácido nalidíxico.
- Vancomicina.
- Trimetropin.
- Polimixina B.
- Rifampicina.

3.1.5. Materiales de vidrio

- Tubos de ensayo de 16 x 150 mm.
- Pipetas de 1.5, 10 y 15 ml.
- Pipetas de Petri de 100 x 15 mm.
- Probetas de 100 y 500 ml.
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 500 ml.

- Frascos medianos de color ámbar de 50 y 100 ml.
- Campanas de microaerofilia.
- Mecheros de alcohol.

3.1.6. Otros

- Guantes estériles.
- Alcohol 96°.
- Cámara digital Cannon.
- Bisturí.
- Pinzas.
- Espátulas.
- Kits de micropipetas.
- Nefelómetro de McFarland.
- Agua destilada.
- Hilo pabilo.
- Detergente.
- Legía.
- Mandil.
- Bolsas de polietileno.

3.1.7. Materiales de escritorio e impresión

- Computadora.
- Cartuchos de tinta.

- Memoria USB 1 MB.
- Papel Bond.
- Marcadores para vidrio.
- Lapicero.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Área de estudio

Esta investigación se realizó en la ciudad de Iquitos, capital del departamento de Loreto, provincia de Maynas, con humedad relativa anual de 97.7%, temperatura promedio anual de 30.7 °C y se halla a una altitud de 124.4 m.s.n.m. Las coordenadas geográficas son: 03° 45' 05.865'' latitud sur y 73° 14' 40.970'' longitud oeste, la cual está situada en la parte Nor-Oriental del Perú y ubicada a la margen izquierda del río Amazonas¹⁸.

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP, ubicado en la calle Pevas 5^{ta} cuadra, de la ciudad de Iquitos.

3.2.2. Población y muestra

Se contabilizó un total de 6 820 pollos dispuestos a la venta en 184 puestos de los mercados Belén y Modelo; de este número de puestos de venta de pollos, en el mercado Belén se contó con 123 puestos, de los cuales 40 puestos se consideró formales (50 pollos a más dispuestos a la venta diariamente) y 83 puestos informales (menos de 50 pollos a la venta diariamente) y en el mercado Modelo se

contó con 61 puestos, de ellos se consideró 17 puestos formales y 44 puestos informales. Mientras que la población objetivo estuvo conformada por 3 630 pollos que se expendieron diariamente en los puestos formales de los mercados Belén y modelo de la ciudad de Iquitos.

3.2.3. Obtención de la muestra

De los puestos seleccionados se colectaron 128 muestras de carne cruda de pollo, de las cuales se procesaron 9 muestras semanales correspondiente a cada puesto durante 14 semanas; en la semana 15 se procesaron dos muestras correspondientes al mercado Belén como se indica en el Anexo N° 01. Estas muestras fueron colectadas en bolsas de polietileno de primer uso e inmediatamente transportadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias biológicas – UNAP, donde fueron sometidas a su análisis respectivo.

La selección de la muestra fue determinada empleando la siguiente formula:

$$n = N^2pq / d^2 (N - 1) + Z^2 pq$$

donde:

Z= 1.96 (obtenido de la tabla de distribución normal)

P= 1/14 (proporción de pollos infectados)

Q= 13/14 (proporción de pollos no infectados)

N= 3 630 pollos de la población total

Determinándose una muestra de 14 pollos por puesto de venta (Anexo N° 01)

3.2.4. Análisis de laboratorio

3.2.4.1. Enriquecimiento de la muestra

De cada muestra seleccionada se tomaron 20 gramos de carne cruda de pollo, la cual fue enriquecida con 20 ml de Caldo de Transporte y Enriquecimiento para *Campylobacter* (TEC)¹, y suelo se incubó a 37°C por 6 horas en condiciones de microaerofilia². Después se tomó una asada de la muestra del caldo (TEC) para ser sembradas por agotamiento en placas de Agar Skirrow modificado e incubadas durante 48 horas a 42°C en condiciones de microaerofilia.

3.2.4.2. Identificación presuntiva de *Campylobacter* termotolerante

Las placas Agar Skirrow modificado fueron examinadas y las colonias que crecieron a nivel de las estrías con apariencia de gota de agua (Anexo N° 02), fueron coloreadas con la técnica de Gram, utilizando como colorante de contraste a la fucsina ácida¹⁹ con la finalidad de observar bacterias Gram positivas, curvo espiraladas; las colonias que presentaron estas características fueron repicadas en Agar sangre – FBP¹ e incubadas a 42°C durante 48 horas en microaerofilia, con el propósito de obtener cultivos puros a los cuales se les realizó pruebas de oxidasa y catalasa, siendo *Campylobacter* spp. positivas a ambas pruebas.

3.2.4.3. Identificación confirmativa de *Campylobacter* termotolerante

Se utilizó el esquema propuesto por Lior²⁰.

a. Hidrólisis del hipurato de sodio²⁰

Del Agar Sangre - FBP se tomó una asada de la cepa en estudio, la que se suspendió en una solución acuosa de hipurato de sodio al 1% y se le incubó en baño María a 37°C durante 2 horas. Luego del período de incubación se agregó 0.2 ml de solución ninhidrina al 3.5%, reincubándose por 10 minutos adicionales. Los tubos que viraron a un color azul púrpura correspondieron a *Campylobacter jejuni* y los que no viraron a *Campylobacter coli*.

b. Sensibilidad al ácido nalidíxico²⁰

Se determinó mediante la siembra, en la superficie de las placas con Agar Sangre – FBP, de las cepas identificadas presuntivamente como *Campylobacter* spp. Y se colocó centralmente sobre la siembra un sensidisco de ácido nalidíxico de 30 ug de potencia. Posteriormente las placas fueron incubadas a 42°C durante 48 horas, en condiciones de microaerofilia. La presencia de un halo de inhibición del crecimiento superior a 20 mm de diámetro indicó sensibilidad de la cepa bacteriana al mencionado antibiótico (Anexos N° 03 y 04).

3.2.5. Análisis e interpretación de los resultados

Para el análisis e interpretación de los resultados se utilizó la estadística descriptiva, mediante el uso de cuadros y figuras, y se aplicó la prueba de Test de proporciones. La información fue procesada en los programas SPSS versión 16 y Microsoft Excel.

IV. RESULTADOS

4.1. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *CAMPYLOBACTER* TERMOTOLERANTES A PARTIR DE COLONIAS SOSPECHOSAS AISLADAS DE CARNE CRUDA DE POLLO QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE BELÉN Y MODELO DE LA CIUDAD DE IQUITOS

En la Tabla N° 01, se observa que del total de muestras analizadas de carne cruda de pollo (n=128), obtenidas en los mercados Modelo (Anexo N° 05) y Belén (Anexo N° 06) de la ciudad de Iquitos, el 21% (n= 27) fueron positivas a *Campylobacter* termotolerante y el 78.9% (n=101) fueron negativas; mientras que en el mercado Belén el 13.9% (n=10) fueron positivas y el 86.1% (n=62) fueron negativas y en el mercado Modelo el 30.4% (n=17) resultaron positivas a *Campylobacter* termotolerante y 69.6% (n=39) fueron negativas.

Tabla N° 01. Aislamiento de *Campylobacter* termotolerante en carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de Iquitos.

MERCADO	Positivo <i>Campylobacter</i> termotolerante		Negativo a <i>Campylobacter</i> termotolerante		Total general
	%	n	%	n	
Belén	13.9	10	86.1	62	72
Modelo	30.4	17	69.6	39	56
Total	21.1	27	78.9	101	128

Fuente: Elaborada por la tesista

Así mismo, en la Figura N° 01 se observa que en el mercado Belén el 13% (n=10 pollos) son positivos a *Campylobacter* y el 86.1% (n=62 pollos) son negativos a *Campylobacter*, mientras que en el mercado Modelo el 30% (n=17 pollos) son positivos a *Campylobacter* y el 69.6% (n=39 pollos) son negativos a *Campylobacter*. Por otra parte, del total de pollos muestreados el 21.1% (n=27 pollos) fueron positivos a *Campylobacter* termotolerante y el 78.9% (n=101 pollos) fueron negativos a *Campylobacter* termotolerante.

Así mismo, la Tabla N° 02 se muestra el ANOVA aplicando el Test de Proporciones con un nivel de significancia del 0.05 y 95% de confiabilidad, la prevalencia de *Campylobacter* termotolerante es más alto en el mercado Modelo (30.4%) que en el mercado Belén (13.9%), existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos mercados.

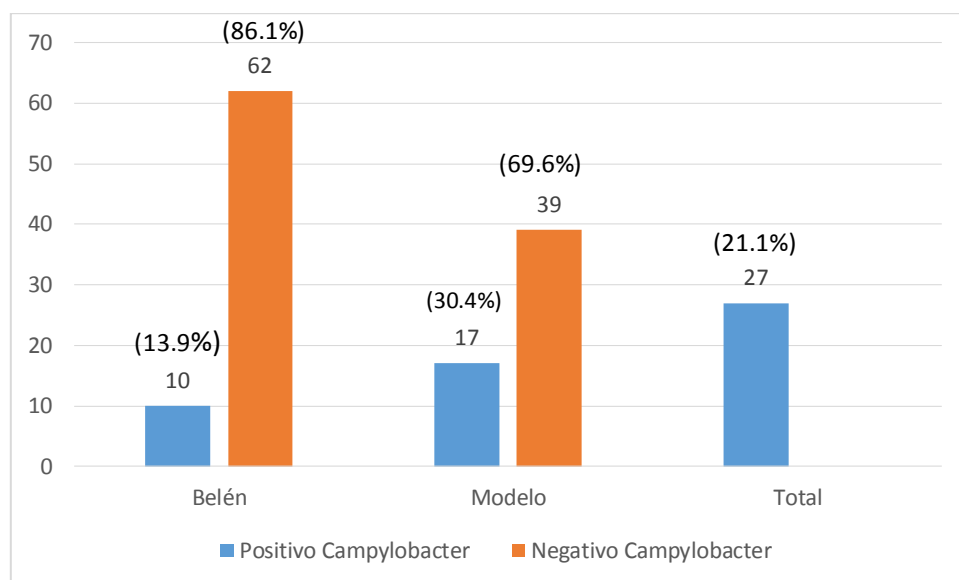


Figura N° 01. Porcentaje de *Campylobacter* termotolerante aislado de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Tabla N° 02. Test de Proporciones para *Campylobacter* termotolerante entre los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Mercado	X	N	Sample p
Belén	10	72	0.138889
Modelo	17	56	0.303571

Diference= $p(\text{Belén}) - p(\text{Modelo})$

Estimate for difference: - 0.164683

95% CI por difference: (- 0.309194, - 0.0201709)

Test for difference= 0 (vs not= 0): Z= -2.23 p-value= 0.026

4.2. DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE ESPECIES DE *CAMPYLOBACTER* TERMOTOLERANTES AISLADOS DE CARNE CRUDA DE POLLOS DISPUESTA PARA LA VENTA

La Tabla N° 03, reporta la frecuencia de aislamiento de las especies de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* de muestras analizadas de carne cruda de pollo expandidas en el mercado de Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos: en el mercado Belén 6 muestras (8.3%) resultaron positivas para *Campylobacter coli*, así mismo en el mercado Modelo 9 muestras (16.1%) mostraron la presencia de *Campylobacter jejuni* y 8 muestras (14.3%) corresponden a *Campylobacter coli*.

Así mismo en la Figura N° 02, se observa que del total de pollos muestreados, 15 resultaron positivas a *Campylobacter jejuni* y 12 a *Campylobacter coli*, siendo *Campylobacter jejuni* la especie que tiene mayor presencia en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Tabla N° 03. Frecuencia de aislamiento de especies de *Campylobacter* termotolerantes de carne cruda de pollo que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Mercado	N° de muestras	<i>Campylobacter jejuni</i>		<i>Campylobacter coli</i>		TOTAL POSITIVOS
		N° de muestras	%	N° de muestras	%	N°
Belén	72	6	8.3	4	5.6	10
Modelo	56	9	16.1	8	14.3	17
Total	128	15	11.7	12	9.4	27

Fuente: Elaborada por la tesista

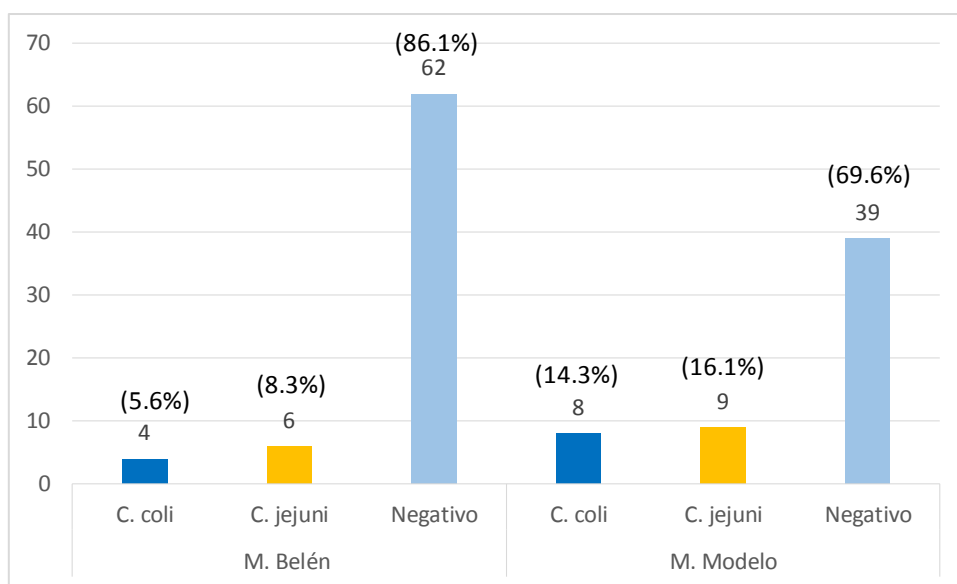


Figura N° 02. Frecuencia de aislamiento de las especies *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* obtenidas de carne cruda de pollos que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Así mismo, en la Figura N° 03 se observa que en el mercado Belén del total de pollos muestreados que fueron positivos a *Campylobacter* termotolerante, el 60% pertenecen a la especie *Campylobacter jejuni* y el 40% a *Campylobacter coli*, siendo

Campylobacter jejuni la especie que tiene mayor presencia en el mercado Belén. En tanto en el mercado Modelo de los pollos muestreados que fueron positivos a *Campylobacter* termotolerante, el 53% pertenece a *Campylobacter jejuni* y el 47% a *Campylobacter coli*, observándose que en este mercado no se reporta especie predominante de *Campylobacter* termotolerante.

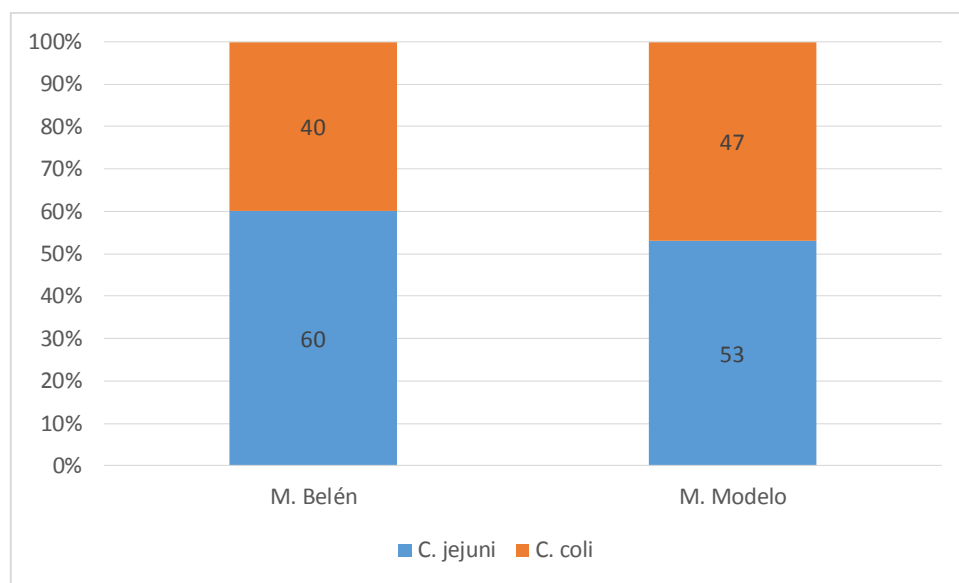


Figura N° 03. Porcentaje de prevalencia de *Campylobacter* termotolerante en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

Por otra parte, en la Tabla N° 04 se muestra el ANOVA aplicando el Test de Proporciones con un nivel de significancia del 0.05 y 95% de confiabilidad donde se muestra que en el mercado Belén la presencia de *Campylobacter jejuni* es predominante (55.5%) en comparación con *Campylobacter coli* (44.5%), de acuerdo a estos análisis no existe diferencia significativa entre *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

Tabla N° 04. Test de Proporciones para *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* entre los mercados Belén y Modelo.

Identi. confirmatoria	X	N	Sample p
<i>C. jejuni</i>	15	27	0.555
<i>C. coli</i>	12	27	0.445

Diference= $p(C. jejuni) - p(C. coli)$

Estimate for difference: - 0.111

95% CI por difference: (- 0.1551036, - 0.3751036)

Test for difference= 0 (vs not= 0): Z= -0.8083 p-value= 1

4.3. DIFERENCIAS ENTRE LA TASA DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER TERMOTOLERANTES DE LOS MERCADOS BELÉN Y MODELO DE LA CIUDAD DE IQUITOS

En la Figura N° 04, se observa la proporción total de las especies de *Campylobacter* termotolerante de las muestras de pollo que se tomaron en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos, donde no existe diferencia significativa entre *Campylobacter jejuni* (55.5%) y *Campylobacter coli* (44.5%).

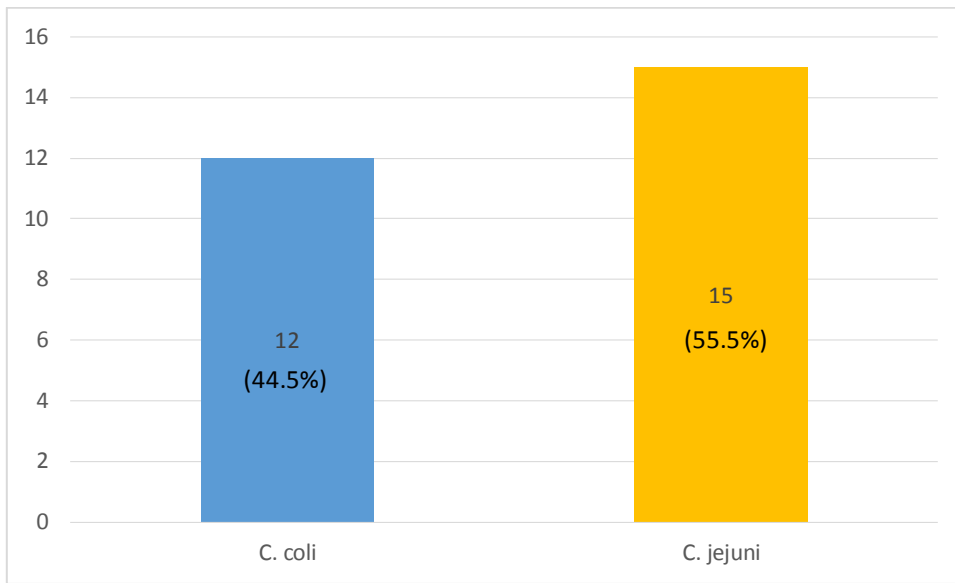


Figura N° 04. Proporción total de las especies de Campylobacter termotolerante de las muestras de carne de pollo que se tomaron en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.

V. DISCUSIÓN

Se ha demostrado que el consumo de alimento de origen aviar es una fuente importante de infección por *Campylobacter* spp. Ya sea de alimentos provenientes de aves de criaderos domésticos o aquellos producidos a nivel industrial ¹².

El reservorio de *Campylobacter* spp. es el tubo digestivo de un gran número de animales de sangre caliente, principalmente las aves, donde está presente como saprófito y también como patógeno entérico ocasional las bacterias termotolerantes como *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* aisladas en este estudio, que siempre han sido sindicadas como agentes patogénicos para animales y para el hombre²¹. Por lo tanto, los porcentajes de muestras positivas encontradas en el presente trabajo, permite tomar las siguientes consideraciones:

En las muestras procesadas de los mercados Belén y Modelo se logró aislar *Campylobacter* termotolerantes en 21.1%, este porcentaje es mayor que el 6.25% de 120 carcasas de pollo destinadas al consumo en el valle de Catamarca (Argentina)¹⁶. En tanto, se encontró en mayor porcentaje (30.4%) de estas bacterias en las muestras procedentes del mercado Modelo en relación a las del mercado Belén (13.9%), diferencia porcentual que resultó estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre ambos mercados.

Debido a la inadecuada infraestructura de los puestos de venta del mercado Modelo y a las malas prácticas de higiene por parte de los vendedores de este mercado, la contaminación por *Campylobacter* spp. de la carne de pollo que allí se expenden se ve favorecida, ya que la evisceración la realizan en las mismas mesas

de venta y el enjuague de los pollos lo hacen en tinas de agua, donde se puede observar la presencia de materia orgánica, las mismas que muchas veces no son cambiadas con la debida frecuencia y bajo estas condiciones los pollos son ofrecidas al público (Anexo N° 05). Al respecto, se indican que en los pollos analizados inmediatamente después de la remoción de las vísceras, se puede encontrar una contaminación importante de la carne de pollo con las bacterias de su flora intestinal, aún en una planta avícola altamente mecanizada, como la planta avícola que fue objeto de estudio en México⁶.

En tanto, en el mercado Belén el porcentaje de incidencia fue del 13.9% y las condiciones de los puestos de venta y la exposición de los pollos al público no difieren mucho el mercado Modelo (Anexo N° 06), aunque cabe destacar que el sacrificio, eviscerado y distribución de los pollos se hace a partir de los mataderos “avícolas” que se encuentran en las inmediaciones del mismo mercado, a donde llegan desde las granjas avícolas cercanas a la ciudad de Iquitos. Así mismo, se indican que las condiciones en que se realiza la faena del pollo industrial no elimina totalmente la carga bacteriana, aunque el escaldado (alta temperatura en corto tiempo con alta concentración de materia orgánica) reduce el número de bacterias pero durante el eviscerado se produce la mayor contaminación cruzada, y para el enjuague (si bien el cloro es un buen desinfectante para este agente) la alta cantidad de materia orgánica hace que no sea tan efectivo¹⁹.

El clima caluroso de la ciudad de Iquitos es un factor importante en la proliferación de *Campylobacter* spp. que fue corroborado con resultados encontrados en Guadalajara¹⁴, quienes indican que las tasas más altas de recuperación de la bacteria (90%) se han observado en los meses calurosos. En tanto, en los meses de diciembre y enero estas cifras son más bajas (33%).

La prevalencia de *Campylobacter jejuni* (55.5%) en este estudio es mayoritaria, comparable con investigaciones realizadas en la ciudad de La Plata (Argentina)¹¹, y en Polonia^{13;15}. Mientras que *Campylobacter coli* (45.5%), resultó ser inferior como las reportadas en Brasil⁵ y en Argentina¹⁰; estas diferencias podrían deberse a las distintas técnicas utilizadas para procesar las muestras, también a las injurias sufridas por las mismas en el lugar de expendio (exposición a diferentes temperaturas, tiempo de almacenaje, etc.) y a factores desconocidos al obtenerlos de los puestos de venta. Sin embargo, esta diferencia entre las dos especies resultó no ser estadísticamente significativa.

Así mismo, mencionan que alrededor del 95% de las infecciones por *Campylobacter* son causadas por *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* y la complicación más severa de la infección es una condición conocida como síndrome de Guillain-Barré y *Campylobacter jejuni* es el más frecuente agente asociado en estos casos¹⁴.

En consecuencia los pollos expuestos a la venta en ambos mercados pueden comportarse como una fuente importante de infección para el hombre. Se menciona que la contaminación por estos microorganismos no solo se encuentra a nivel del tracto intestinal, también puede encontrarse a nivel de superficie del ave;

además de las herramientas y las superficies de contacto pueden contener un gran número del microorganismo, incluso después de lavado⁴. En un estudio sobre recuperación de *Campylobacter jejuni* de las superficie de los mataderos de aves de corral después de la limpieza y desinfección, encontraron que esta bacteria es capaz de sobrevivir toda la noche en la superficie de los equipos de procesamiento, pudiendo de esta manera contaminar la carne de pollo, además los vendedores y el personal manipulador de alimentos pueden convertirse en rutas de importancia para la transmisión de la campylobacteriosis¹⁷.

VI. CONCLUSIONES

De la presente investigación se concluye que:

1. *Campylobacter* termotolerante se encontró presente en 21.1% de las muestras de carne cruda de pollos que se expenden en los mercados Belén y Modelo de la ciudad de Iquitos.
2. La especie más frecuente de *Campylobacter* termotolerante en los mercados Belén y Modelo fue *Campylobacter jejuni* con 15 muestras (11.7%).
3. La mayor prevalencia de *Campylobacter jejuni* se obtuvo de muestras provenientes del mercado Modelo con 9 muestras (16.1%).
4. los pollos contaminados por *Campylobacter* spp. vendidos en los mercados Belén y Modelo, pueden comportarse como vehículo de diseminación de esta bacteria.
5. Los vendedores de pollos y personas que manipulan alimentos pueden convertirse en importantes rutas para la transmisión de la campylobacteriosis.

VII. RECOMENDACIONES

1. Capacitar a los vendedores de pollos y manipuladores de alimentos sobre buenas prácticas de higiene durante el faenado, expendio y preparación de alimentos con estas aves, así como dar a conocer los riesgos que conlleva la falta de aplicación de estas prácticas.
2. Ejecutar estudios sobre campylobacteriosis en personal comprometido directamente en manejo de aves de corral, tales como trabajadores de granjas, de mataderos y personas que expenden estas aves en los distintos mercados de la ciudad de Iquitos.
3. Implementar servicios básicos (agua y desagüe) en los puestos de venta de carne de pollo en los mercados Belén y Modelo para evitar riesgo de contaminación por *Campylobacter termotolerante*.
4. Fomentar la aplicación de los sistemas de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) en establecimientos que manipulan, elaboran y distribuyen alimentos a partir de carne de pollo.
5. Dar información sanitaria a manipuladores de alimentos y amas de casa en establecimientos de venta de carne de pollo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. TRESIERRA, A. 1992. Presencia de los factores enterotóxicos y “ Cytotolethal Dystending Toxin” en cepas de *Campylobacter jejuni* sub. sp. *jejuni* y *Campylobacter coli* de origen humano y bovino. Tesis de Maestría Universidad Austral de Chile. 107 pp.
2. FERNANDEZ, H. y PISÓN, V. 1996. Isolation of thermotolerant species of *Campylobacter* from comercial chicken lives. Revista Internacional de Microbiología de Alimentos N° 29: 75 – 80.
3. TRESIERRA, A; BENDAYAN, M y BERNUY, A. 1995. Carriage of classical thermotolerane *Campylobacter*s in healthy domestic animals from Eastern Perú. Rev. Onst. Med. Trop. S. Paulo N° 37 (6): 537 – 539.
4. HOOD, A.M.; PEARSON, A.D. y SHAHAAMAT, M. 1988. The extent of surface contamination of retailed chickens with *Campylobacter jejuni* sero groups. Epidem. N° 100: 17 – 25.
5. SUKUMA, H.; FRANCO, B. y FERNANDEZ, H. 1992. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in and *Campylobacter coli* in retail raw chicken meat and giblets in –sao Paulo, Brazil. Rev. Microbiol. N° 23 (1): 13 – 16.
6. CASTILLO, A.; SALAS, M y MARQUEZ, H. 1993. Incidence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in raw and roasted in Guadalajara, Mexico. Revista Latinoamericana de Microbiología. N° 35: 371 -375.

7. BERNUY, R.A. 1985. *Campylobacter* termotolerante en aves de corral de la ciudad de Iquitos. Tesis para obtener el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Folia Amazónica. Vol. 7 (1-2).
8. TRESIERRA, A.; FERNANDEZ, H.; BENDAYAN, M.; PEREYRA, G.y BERNUY, A. 1995. Aislamiento de especies termotolerantes de *Campylobacter* en dos poblaciones de pollos criados con y sin confinamiento. Rev. Saúde Publica N° 29 (5): 389 – 392.
9. DOMINGUEZ, C.: GOMEZ, I y ZUMALACARREGUI, J. 1999. Prevalencia de Salmonella y Campylobacter en carne de pollo al por menor en España. Revista Internacional de Microbiología de Alimentos. Vol 72:165 – 168.
10. GIACOBONI, G.; PUCHURI, M. y CERDA, R. 1999. Campylobacter termotolerantes en menudos y carcasas de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de La Plata (Argentina). Analecta Veterinaria: 51 – 54.
11. GIACOBONI, G.; LÓPEZ, C.; TELLECHEA, D. y AGOSTINI, A. 2003. *Campylobacter jejuni* en una granja de pollos camperos. Analecta Veterinaria: 42 – 47.
12. FRANCHIN, P.; AIDOO, K y VIEIRA, C. 2005. Sources of poultry meat contamination with thermophilic Campylobacter beffore slaugther. Brazilian Journal of Microbiology. 36 pp.
13. DACZKOWSKA, K.E.; JANISZIN, J.: WALCZAK, I.: SAGALSKA, A y DABROWSKI, W. 1999. *Campylobacter* spp. in some raw materials of animal origin. Food

Science and Tecnology N° 2(2).

http://www.ejpau.media.pl/series/volumen_2/issue_2/food/art-02.html

14. PEREZ, E.; VILLAGOMEZ, D.; VALERA, J.; THEDA, M.; AYALA, M.; HERNANDEZ, M.; RAMIREZ, A.; GALINDO, J. y URREÑA, M. 2005. Identificación de *Campylobacter* por PCR en canales de pollos sacrificados en Rastro. Avances en la investigación científica en el CUCBA: 662 -668.
15. ROZYNEK, E.; DZIERZANOWKA, K.; JOZWIAK, P.; POPOWSKI, J.; KORSAK, D y DZIERZANOWSKA, E. 2005. Prevalencia of potential *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. Journal Med. Microbiol. N° 54: 615 – 619.
16. SORIA, C. y MALANDRINI, B. 2005. Microorganismos viables asociados a carcasas de pollos. Tesis de Maestría. Universidad Católica de Córdoba, Argentina. 106 pp.
17. PEYRAT, M.; SOUMET, C.; MARIS, P. y SANDER, P. 2008. La contaminación por *Campylobacter jejuni* de las superficies de los mataderos de aves de corral después de la limpieza y desinfección: análisis de una fuente potencial de contaminación del canal. Revista Internacional de Microbiología de los Alimentos. Francia. N° 124 (2): 188 -194.
18. SENAMHI. 2006. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrografía del Perú. 40pp.

19. BERNDTSON, E.; EMANUELSON, U.; ENGVALL, A.; DANIELSON, T.M.L. 1996. A 1 year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. Preventive Veterinary Medicine. N° 26: 167 – 185.
20. LIOR, H. 1984. New extended biotyping scheme for *Campylobacter laridis*. Journal Clinical Microbiological. N° 20: 636 – 640.
21. ESPINOZA, F. 1995. Presencia de *Campylobacter* termotolerante en bovinos y porcinos de consumo en la ciudad de Iquitos. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 44 pp.

ANEXOS

Anexo N° 01. Información de los 9 puestos muestreados muestras obtenidas en cada uno de ellos.

Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Puestos	Belén	Belén	Belén	Belén	Belén	Modelo	Modelo	Modelo	Modelo
Puestos seleccionados	1	44	70	97	121	12	26	37	61
Cantidad de pollos (diarios aprox.)	60	50	150	70	60	50	80	100	60
Polos muestreados	15	15	14	14	14	14	14	14	14

Anexo N° 02. Colonias de *Campylobacter* spp. en Agar Skirrow.



Anexo N° 03. Flujograma de aislamiento e identificación de *Campylobacter* termotolerante.

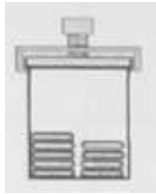
Toma de muestra



20 g de carne cruda de pollo



Enriquecimiento de la muestra en medio de transporte y
enriquecimiento (TEC) A 37°C /h h en microaerofilia



Siembra en medio de aislamiento selectivo en medio de cultivo Skirrow modificado a 42°C/48 h en microaerofilia



Tinción Gram (-) y observación de células
Curvas característica de Campylobacter



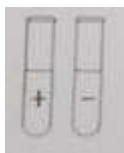
Siembra en agar sangre – FPB e incubar a 42°C/48 h en
Microaerofilia

Prueba de la Oxidasa (+) Prueba de la Catalasa (+)



Identificación confirmativa

Hidrólisis del hipurato de Sodio



Sensibilidad al ácido Nalidíxico



Anexo N° 04. Pruebas utilizadas para diferenciar las especies de *Campylobacter* propuestas por Lior (1984).

Especies	Crecimiento a 42°C	Prueba de la hidrólisis del hipurato	Prueba de sensibilidad al Ácido nalidíxico
<i>Campylobacter jejuni</i>	+	+	+
<i>Campylobacter coli</i>	+	-	+
<i>Campylobacter lari</i>	+	-	-

Anexo N° 05. Puesto de venta del mercado Modelo de la ciudad de Iquitos.



Anexo N° 06. Puesto de venta del mercado Belén de la ciudad de Iquitos.

