



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS  
MENCIÓN: PROTECCIÓN DE ALIMENTOS**

**“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Campylobacter*  
TERMOTOLERANTES EN GRANJAS DE POLLOS PARRILLEROS.”**

**Autora: M.V. Gisela Paola Blanche**

Tesis presentada para la obtención del grado académico de:

**“MAGISTER EN CIENCIAS VETERINARIAS”**

**27 de Agosto**

**Esperanza, Santa Fe 2025**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS  
MENCIÓN: PROTECCIÓN DE ALIMENTOS

**“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Campylobacter*  
TERMOTOLERANTES EN GRANJAS DE POLLOS PARRILLEROS.”**

**Autora:** M.V. Gisela Paola Blanche

**Directora:** Vet., MSc., Dra. María Virginia Zbrun

**Co-Director:** M.V, MSc., Dr. Marcelo Lisandro Signorini P.

**Miembros del Jurado:**

Dra. María Sol Renna

Dr. Mario Alberto Soria

Dra. Alejandra Velilla

Tesis presentada para la obtención del grado académico de:

**“MAGISTER EN CIENCIAS VETERINARIAS”**

**Esperanza, Santa Fe 2025**

*A Giuliana, Giovanni y Gustavo.*  
*“Somos arquitectos de nuestro propio destino”*  
*Albert Einstein.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias al Departamento de Salud Pública de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral y a sus integrantes por brindarme el espacio y el tiempo para poder lograrlo.

Gracias a mi directora la Dra. María Virginia Zbrun y a mi Co- director el Dr. Marcelo Signorini por su tiempo, apoyo y dedicación. Agradezco que me hayan brindado el espacio para poder trabajar y la confianza otorgada.

Gracias al Dr. Laureano Frizzo por su apoyo y por colaborar en el desarrollo de las actividades de este trabajo.

Gracias a la Dra. Eugenia Rossler, por la colaboración brindada en el desarrollo de las actividades y sobre todo por su paciencia y predisposición.

Gracias a BSc.MSc. José Camilo González Muñoz por compartir sus conocimientos y amistad.

Gracias a mi hermosa familia por brindarme su comprensión y estímulo.

Gracias a mi Padre por guiarme y acompañarme.

## ABREVIATURAS

**AD** *Alphitobius diaperinus*.

**CT** *Campylobacter* termotolerantes

**ECDC** del inglés European Centre for Disease Prevention and Control; Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades

.

**EFSA** del inglés European Food Safety Authority; Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

**ETA** Enfermedades transmitidas por los alimentos

**G1** Granja uno

**G2** Granja dos

**GBS** del inglés Guillain-Barré Syndrome; Síndrome de Guillain-Barré.

**mCCDA** agar modificado Desoxicolato-Cefoperazona-Carbón

**OMS** Organización Mundial de la Salud

**pb** Pares de bases

**PCR** del inglés Polymerase Chain Reaction; reacción en cadena de la polimerasa

**TBE** Tris Borato EDTA

**UE** Unión Europea

**UFC** unidad formadora de colonia

## ÍNDICE

1-INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 HIPÓTESIS.....	4
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
3- MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
3-1 Detección de la presencia de CT en pollos parrilleros en sistemas de producción intensivos.....	13
3.1.1- Recolección de muestras en granjas comerciales de pollos parrilleros.....	13
3.1.2- Procesamiento de las muestras y extracción de ADN.....	13
3.1.3- Identificación de las especies aisladas mediante PCR múltiple con cebadores específicos.....	14
3.2- Modelado de la probabilidad de difusión de <i>Campylobacter</i> spp. dentro de un galpón.....	16
3-3. Estudio de la presencia de CT en el cascarudo ( <i>Alphitobius diaperinus</i> ) presente en las camas de las granjas.....	18
3-4. Evaluación de las medidas de manejo adoptadas por los establecimientos productores de pollos parrilleros y diseño de estrategias de manejo para reducir la presencia de CT en ambos establecimientos.....	20
4- RESULTADOS.....	21
4-1. Detección y probabilidad de difusión de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en pollos de las granjas evaluadas.....	22
4-2. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en las granjas evaluadas.....	23
4-2. 1- Prevalencia de CT en pollos parrilleros.....	25
4-2.2- Prevalencia de CT en <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	27
4-3. Condiciones y medidas de manejo de los establecimientos criadores de pollo parrilleros evaluados en este estudio.....	31
4-4. Diseño de medidas de manejo a aplicar en las granjas evaluadas con el objeto de disminuir la prevalencia de CT en pollos destinados al.....	33
5- DISCUSIÓN.....	40
5-1. Detección y probabilidad de difusión de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en pollos parrilleros de granja.....	41
5-2. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en pollos y en <i>Alphitobius diaperinus</i> de granjas.....	43
5-3. Condiciones y medidas de manejo en las granjas.....	46
6- CONCLUSIONES.....	51
7- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
8- ANEXOS.....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Detección de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en las granjas evaluadas .....	22
Figura 2. Probabilidad de difusión de <i>Campylobacter</i> spp. dentro de los galpones de crianza de pollos.....	23
Figura 3. Prevalencia inicial, prevalencia de aislamientos presuntivos y de aislamientos confirmados de <i>Campylobacter</i> termotolerantes de pollos y <i>Alphitobius diaperinus</i> en granja.....	24
Figura 4. Prevalencia de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp. total, en muestras de pollos y de <i>Alphitobius diaperinus</i> en granja.....	25
Figura 5. Prevalencia inicial, prevalencia de aislamientos presuntivos y de aislamientos confirmados de <i>Campylobacter</i> termotolerantes de pollos en cada granja.....	26
Figura 6. Prevalencia de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp. en pollos de cada granja.....	27
Figura 7. Detección de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en adultos de AD en las camas de las granjas.....	28
Figura 8. Detección de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en larvas de AD de en las camas de las granjas.....	29
Figura 9. Detección <i>Campylobacter</i> termotolerantes en <i>pool</i> de adultos de AD en las camas de las granjas.....	29
Figura 10. Detección de <i>Campylobacter</i> termotolerantes en <i>pool</i> de larvas de AD en las camas de las granjas.....	30
Figura 11. Prevalencia de <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> y <i>Campylobacter</i> spp..... en AD aislados en la cama de pollo de cada granja.....	31

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Secuencia de primers utilizados en las PCR específicas de género y especie de <i>Campylobacter</i> .....	16
---	----

## RESUMEN

La campylobacteriosis es una de las principales enfermedades transmitidas por los alimentos a nivel mundial; *Campylobacter jejuni* y *coli* son reconocidas como importantes agentes causales de esta enfermedad. El objetivo de este estudio fue contribuir al conocimiento de la epidemiología de *Campylobacter* termotolerantes (CT) en las granjas de pollos parrilleros, generando información que sirva como base científica para el diseño de medidas de manejo que permitan reducir el impacto en la salud pública. Se estudió en primer lugar la prevalencia de CT en granjas de pollos de engorde y en segundo lugar se evaluó la presencia de CT en el cascarudo (*Alphitobius diaperinus*) presente en la cama de los galpones de crianza. Las muestras fueron sembradas en medio selectivo para *Campylobacter* (mCCDA), en condiciones de microaerofilia. La mayoría de los aislamientos fueron identificados a nivel de especie por PCR multiplex, siendo *C. jejuni* y *C. coli* los principalmente detectados (83% y 12% respectivamente).

Los resultados de este estudio revelaron una prevalencia del 100% de CT en pollos de engorde al finalizar la crianza. También se observó una temprana detección de CT durante el ciclo productivo (semana uno). A su vez, se evidenció la presencia de CT en los insectos de la cama *Alphitobius diaperinus* sugiriendo la implicancia de los mismos en la persistencia y diseminación de CT. Sin embargo, la vía de transmisión es incierta. Para finalizar el trabajo se diseñaron medidas de manejo para aplicar en las granjas.

## SUMMARY

Campylobacteriosis is one of the leading foodborne diseases worldwide, with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* recognized as major causative agents. This study aimed to contribute to the understanding of the epidemiology of thermotolerant *Campylobacter* (TC) in broiler farms, providing scientific data to support the design of management measures to reduce its public health problem. First, the prevalence of CT in broiler farms was assessed. Second, the presence of CT in the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*), found in the litter of the broiler chickens, was evaluated. Samples were cultured on *Campylobacter* selective media (mCCDA) under microaerophilic conditions. Most isolates were identified at the species level using multiplex PCR, with *C. jejuni* and *C. coli* showing the highest prevalence (83 and 12%, respectively). The results revealed a 100% prevalence of CT in broiler chickens at the end of the rearing period. Early detection of CT was also observed in the production cycle (week one). Additionally, CT was detected in *A. diaperinus*, suggesting its involvement in the persistence and dissemination of CT. However, the transmission route remains unclear. Finally, management measures were designed for implementation in broiler farms.

# I-INTRODUCCIÓN

La inocuidad alimentaria atañe a una cuestión fundamental de la salud pública en todos los países. Las ETAs (Enfermedades transmitidas por los alimentos) pueden ser diferenciadas en infecciones alimentarias e intoxicaciones alimentarias. La primera hace referencia a aquellas afecciones generadas por el consumo de alimentos que contienen al Bmicroorganismo patógeno, mientras que la segunda (intoxicaciones alimentarias) hacen mención a la ingestión de alimentos que contienen sustancias liberadas por estos microorganismos patógenos (toxinas), lo que puede acarrear daños graves a la salud del consumidor. La contaminación de los alimentos puede ocurrir en cualquier etapa del proceso, desde la producción primaria hasta el consumo de alimentos; es decir que puede darse en el recorrido de la granja a la mesa. Han sido descritas más de 250 enfermedades distintas que pueden ser transmitidas a través de los alimentos, siendo en su mayoría infecciones ocasionadas por microorganismos entre los que encontramos virus, parásitos, hongos y bacterias. En todo el mundo, cerca de 600 millones de personas sufren enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), con aproximadamente 420.000 muertes al año, de las cuales alrededor de 125.000 corresponden a niños menores de 5 años (WHO, 2015; Fernández y col.2021). Por su parte en las Américas alrededor de 77.000.000 de personas padecen anualmente ETAs y aproximadamente 9000 fallecen, siendo las enfermedades diarreicas el 95% de las ETAs reportadas (Tamborini y col., 2012; Sociedad Argentina de Pediatría 2019; Zbrun y col., 2021; Garcés Pérez y col., 2023).

Dentro de los peligros microbiológicos más comunes hallados en los brotes de ETAs tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo se destaca la campylobacteriosis, una zoonosis de distribución mundial, causada por *Campylobacter* termotolerantes (CT) los cuales se encuentran en el tracto gastrointestinal de animales domésticos y animales silvestres, siendo las aves de corral el principal reservorio y vehículo de transmisión de este microorganismo patógeno (Tamborini y col., 2012; Sociedad Argentina de Pediatría 2019; Zbrun y col., 2021).

Este grupo de bacterias (*Campylobacter spp.*) corresponden a bacilos Gram-negativos microaerófilos que pueden alcanzar entre 0,5  $\mu\text{m}$  – 5  $\mu\text{m}$  de longitud y de 0,2 a 0,8  $\mu\text{m}$  de ancho (Vandamme y col., 2005; Facciola y col., 2017). Presentan una morfología que puede variar entre vibriónica (bacilos curvados), forma de “S” o espirilar cuando se

encuentra en su fase logarítmica y cocoide cuando el cultivo se encuentra envejecido (Alonso, 2002). Estas bacterias presentan un flagelo en uno o ambos extremos de la célula, el cual es hasta tres veces el tamaño de la bacteria y le facilitan el movimiento característico en forma de zig-zag o de sacacorchos. En placa, las colonias presuntivas de *Campylobacter* presentan una coloración grisácea, de aspecto cremoso, húmedo y con tendencia a extenderse con un brillo plateado por toda la placa (Salim y col., 2014). Todas las especies del género *Campylobacter* (32 especies y 9 subespecies) se pueden desarrollar a 37° C. Sin embargo, existen especies termotolerantes como *C. jejuni* y *C. coli* que se desarrollan a una temperatura óptima de 42° C. Estas últimas son especies patogénicas para el ser humano causando diarrea y gastroenteritis (Vandamme y col., 2005; Facciola y col., 2017). Estos CT son intrínsecamente resistentes a una variedad de antibióticos combinados entre los que se encuentran la polimixina, vancomicina, cicloheximida, cefoperazona y trimetoprima (Flórez, 2018, Schreyer y col., 2022), que dificulta el tratamiento de la infección reduciendo el espectro de medicamentos disponibles y efectivos para su tratamiento.

La campylobacteriosis corresponde a una infección producida por bacterias del género *Campylobacter* principalmente *C. jejuni* (aproximadamente un 90% de los casos) y *C. coli* (alrededor de un 10% de los casos) (Flórez, 2018). Las mismas son responsables de más del 95% de las enfermedades inducidas por este género, dando como sintomatología afecciones gastrointestinales como náuseas, vómitos, espasmos estomacales y diarrea. Sin embargo, pueden presentarse otros síntomas de manera adicional como la cefalea, fiebre y visión doble (Sociedad Argentina de Pediatría 2019). También se han descrito, pero de manera infrecuente, un número de complicaciones postdiarréicas (infecciones y secuelas extraintestinales) (Epps y col., 2013). Estas pueden ser: infección en las vías urinarias, meningitis, endocarditis, peritonitis, aborto, artritis reactiva y Síndrome de Guillain-Barré (GBS) (Epps y col., 2013; Keithlin y col., 2014; O'Brien, 2017).

Los principales hospedadores tanto de *C. jejuni* como *C. coli* son mamíferos y aves, incluyendo aves de corral. Es aceptado que los pollos son los hospedadores naturales para *Campylobacter* termotolerantes y que la colonización de estas aves es la principal fuente de contaminación en relación a la transmisión de este patógeno a los seres humanos (EFSA y ECDC, 2011, Hermans y col., 2012). Se ha descrito a nivel de granja que

vectores como aves silvestres e insectos (*Alphitobius diaperinus* y moscas) y fómites, como las botas de los trabajadores y la cama de crianza del galpón podrían ser los reservorios de *Campylobacter* termotolerantes que actúan como fuente de contaminación de este microorganismo en pollos (Royden y col., 2016; Rossler, 2023).

Un punto importante a tener en cuenta es el proceso de faena de los pollos parrilleros, que tiene como objetivo producir carne segura para el consumo humano. Esto implica una serie de pasos encaminados a transformar un pollo vivo en una carcasa lista para su cocción y consumo. La faena de los pollos en frigoríficos a gran escala es un proceso rápido y altamente automatizado (Tsola y col., 2008; y Althaus col., 2017). A lo largo del proceso, a pesar de los avances tecnológicos, es posible la contaminación de las carcasas y la propagación de ciertas bacterias como *Campylobacter* en las diferentes etapas de la cadena de producción (Rouger y col., 2017; Rossler, 2023).

En nuestro país, la producción y en consumo de carne de pollo ha ido aumentando durante los últimos años. Debido a ello, se requiere realizar cambios en los sistemas productivos tendientes a una mayor intensificación e integración de los eslabones de la cadena avícola. A su vez es imprescindible reducir la transmisión del patógeno desde los pollos a los humanos mediante la aplicación de estrategias apropiadas de intervención. El desarrollo de estrategias eficientes resulta complejo dado que aún restan dilucidar muchas incertidumbres sobre la epidemiología de CT en las granjas de engorde de pollos, por lo que mejorar la comprensión respecto al proceso epidemiológico de la enfermedad permitirá contribuir en los procesos de mejora en las condiciones de crianza y reducción de la diseminación de la enfermedad.

## **1.1 HIPÓTESIS**

Las especies de *Campylobacter* termotolerantes son capaces de ingresar en diferentes momentos de la crianza de pollos de engorde.

El entendimiento de la epidemiología de estos microorganismos permitirá definir y evaluar estrategias de intervención tendientes a reducir la prevalencia y concentración del

patógeno en las aves y reducir el peligro de exposición a través del consumo de carne aviar.

## **1.2 OBJETIVO GENERAL**

Contribuir al conocimiento de la epidemiología de *Campylobacter* termotolerantes en las granjas de pollos parrilleros, generando información que sirva como base científica para el diseño de medidas de manejo que permitan reducir el impacto en la salud pública.

## **1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar el momento en el cual *Campylobacter* termotolerantes es detectado en la materia fecal de los pollos parrilleros alojados en los galpones de las granjas comerciales.

Evaluar la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en el cascarudo *Alphitobius diaperinus* presente en la cama de crianza de los pollos de engorde.

Estudiar las medidas de manejo adoptadas por los establecimientos productores de pollos parrilleros con el objeto de detectar factores asociados a la colonización de los pollos por *Campylobacter* termotolerantes.

Proponer estrategias de manejo a aplicar en granjas con el objeto de disminuir la prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en pollos destinados al consumo humano.

# **II- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) representan graves amenazas para la salud de millones de personas. Desde tiempos pasados, se han documentado en todos los continentes graves brotes de ETAs, que demuestran su importancia tanto a nivel social como de la salud pública (FAO, 2004; Keene, 2006). Dentro de las ETAs la campylobacteriosis causada por CT corresponde a una de las principales causas de infección entérica por consumo de alimentos en países desarrollados y en vías de desarrollo (Pedersen y col., 2018; Natsos y col., 2019; Adrianza y col., 2023; Heimesaat y col., 2023) que causa en el ser humano una enteritis inflamatoria que afecta inicialmente el intestino delgado y posteriormente el colon y el recto, evidenciándose como sintomatología, una gastroenteritis o enterocolitis que viene acompañada por náuseas, vómitos, espasmos estomacales y diarrea (Dasti y col., 2010; Kaakoush y col., 2015; Heimesaat y col., 2023).

El desarrollo de la enfermedad comienza con la ingesta de alimentos contaminados por *Campylobacter* (se estima que la dosis infectiva de *Campylobacter* se encuentra entre 800-1000 UFC/mL) (Kaakoush y col., 2015; Miranda y col., 2023). Posteriormente, se presenta el periodo de incubación (entre 2 a 5 días), con límite máximo de 10 días. En la mayoría de los casos la enfermedad es autolimitante, aunque en ocasiones puede estar en riesgo la vida de las personas cuando éstas presentan defensas limitadas como sucede con los niños, adultos mayores o los pacientes inmunosuprimidos (VIH/SIDA, trasplante de órganos, trastornos hematológicos, cáncer, etc.) (Teh y col., 2023). A su vez se ha demostrado que en individuos con historial previo de la enfermedad gastrointestinal aparecen secuelas a nivel de enfermedades autoinmunes como la artritis reactiva o el síndrome Guillain-Barré (GBS) que produce un desorden inmune del sistema nervioso periférico y que se manifiesta en forma de parálisis ascendente, debilidad progresiva y carencia de reflejos, a su vez puede derivar en un compromiso de la musculatura respiratoria y posterior muerte del paciente (Alonso-Pérez y col., 2021; Domínguez Carrillo y col., 2021; Miranda y col., 2023; Heimesaat y col., 2023).

Las especies de CT han sido consideradas como los patógenos zoonóticos transmitidos por alimentos, responsables del mayor número de enfermos por diarreas de origen bacteriano a nivel mundial (Adrianza y col., 2023; Heimesaat y col., 2023). Esta

enfermedad afecta a cerca de 1,5 millones de personas en Estados Unidos anualmente y cerca de 130.000 casos reportados por la Unión Europea al 2021, siendo en la mayoría casos confirmados campylobacteriosis causada por *C. jejuni* (88,4%) seguido de un 10.1% para los casos generados por *C. coli* (WHO, 2013; European Centre for Disease Prevention and Control 2022). En lo que respecta a América del Sur, los reportes epidemiológicos sobre la incidencia de campylobacteriosis son escasos, principalmente a causa de casos no reportados o que no son diagnosticados. A la fecha se ha registrado una ocurrencia de diarreas agudas para la Argentina a una tasa de 3.000 casos por cada 100.000 habitantes, siendo *Campylobacter* el cuarto agente etiológico en orden de importancia (Fernández, 2011; Boletín de Vigilancia Ministerio de Salud Argentina, 2020). Sin embargo, los estudios y datos existentes sobre estos patógenos en nuestro país y más específicamente en la provincia de Santa Fe, son escasos (Zbrun y col., 2021).

En el ser humano, la campylobacteriosis tiene diferentes fuentes y rutas potenciales de infección, no comprendidas aún en su totalidad y que continúan siendo estudiadas (Wagenaar y col., 2013). Es frecuentemente aislada a partir de cerdos y aves de corral, respectivamente. Tanto *C. jejuni* como *C. coli* son las especies de CT más importantes a nivel zoonótico, las cuales son comensales entéricas de las aves de corral (Kaakoush y col., 2015; Heimesaat y col., 2023), siendo los pollos de engorde el principal reservorio. La carne procedente de estas aves suele presentar niveles de contaminación elevados, (EFSA, 2011; EFSA, 2014; EFSA,2024) con una colonización en sus ciegos de aproximadamente  $1 \times 10^9$  UFC/g de contenido cecal (Stern y col., 2001; EFSA y ECDC, 2016).

Las principales fuentes de infección para el hombre, por tanto, se encuentran en los alimentos de origen animal que no han sido manipulados correctamente o que no han tenido un buen proceso de cocción, como por ejemplo leche sin pasteurizar y carne de pollo cruda o mal cocida (Damjanova y col., 2011; Wagenaar y col., 2013). También se apunta a otras fuentes que pueden ayudar a comprender la complejidad de la epidemiología como son las verduras, por contaminación cruzada con alimentos contaminados (Vencia y col., 2014).

En lo que atañe a las formas de transmisión de los CT entre las aves de corral, se han mencionado dos formas. La primera se relaciona a la transmisión vertical de CT, la cual

ha sido estudiada ampliamente y en la que se concluye una baja probabilidad de ocurrencia en condiciones naturales (Zbrun y col., 2013). La segunda ruta propuesta es mediante transmisión horizontal, la cual ha sido demostrada tanto por contaminación del agua de bebida, la cama donde se alojan las aves, la indumentaria de trabajo del empleado, los insectos y la fauna que se encuentra en los alrededores de la granja (Cox y col., 2012;

En lo que respecta a la diseminación de *Campylobacter* en las granjas de pollos de engorde se han descritos vectores como artrópodos, mamíferos y aves implicados en la transmisión, así como también objetos o sustancias inanimadas (fómites) (Hermans y col., 2011; Meerburg y Schoelitsz, 2018). Dentro de los vectores se han mencionado a los escarabajos de la cama (*Alphitobius diaperinus*), en su estadio larval y adultos como una de las principales fuentes de diseminación de CT ya que se suele encontrar poblaciones del escarabajo con números elevados en las camas de crianza en el interior de los galpones de pollos (Chinivasagam y col., 2010; Dinev, 2013). A nivel taxonómico, este escarabajo pertenece al orden coleóptero y familia *Tenebrionidae* dentro de la clase Insecta. Este escarabajo, requiere un ambiente cálido y húmedo para su desarrollo por lo que las camas de los galpones en donde habitan los pollos les provee un ambiente favorable para su crecimiento y reproducción llegando a ovopositar cerca de 2.000 huevos por hembra fertilizada (Cecco y col., 2005). Considerando el elevado número poblacional en los galpones y las evidencias que demuestran la presencia de las mismas cepas de *Campylobacter* presentes tanto en estos insectos como en los pollos de crianza durante el mismo ciclo productivo, lo señalan como el principal vector y reservorio de poblaciones de microorganismos colonizadores de pollos, que adquieren *Campylobacter* al realizar la ingesta de estos insectos (Agabou y Alloui 2010; Cox y col., 2010; Rauber Würfel y col., 2019; Rossler, 2023). A pesar que *Alphitobius diaperinus* ha sido sindicado como uno de los factores clave en la diseminación de *Campylobacter*, las acciones rutinarias ejecutadas por el personal de las granjas y el uso indiscriminado de antibióticos juegan también un rol en su transmisión dada a la falta de homogeneidad en las prácticas de limpieza y control sanitario entre las diferentes granjas, compañías y países (Newell y col., 2011).

Nuestro país, ha sido reconocido como un país productor y exportador de proteínas de origen animal ocupando el puesto número ocho como productor y octavo como exportador a nivel internacional (MAGyP 2022). La producción de carne aviar ha evidenciado un incremento significativo, alcanzando durante el año 2022 una faena total

por encima de los 751,7 millones de cabezas. Este aumento en la producción obligó al uso de diferentes estrategias para el sostenimiento de la producción, como lo es el empleo de tecnologías de alto nivel y prácticas intensivas, en las que se ha llegado al uso incontrolado de antimicrobianos como promotores de crecimiento. El uso indiscriminado de antimicrobianos, junto con el estrés fisiológico que sufren las aves y la selección genética de ejemplares para aumentar la tasa de crecimiento, contribuye a la presencia de residuos en los alimentos. Además, crea una presión selectiva que favorece el desarrollo de microorganismos resistentes a antibióticos, debilitando el sistema inmunológico de las aves de corral y facilitando la colonización de su tracto gastrointestinal por cepas de CT. Esta situación se traslada a un problema sanitario posterior para las aves de corral y una falla en la seguridad alimentaria humana (Flórez, 2018; Zbrun y col., 2021; Zhang y col., 2023). A la fecha, han sido reportadas cepas de *Campylobacter* que presentan múltiple resistencia a diversos antibióticos debido a la mala manipulación de los mismos por parte de los criadores de aves de corral (Heimesaat y col., 2023). En este sentido, se han detectado cepas de CT que afectan a pacientes humanos y que no pueden ser correctamente tratadas con los antibióticos de rutina como las penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, trimetoprima, rifampicina, sulfametoxazol y vancomicina (Schreyer y col., 2022), dejando en evidencia la necesidad de mejorar el sistema de control en lo que respecta al uso de antibióticos durante la producción primaria de alimentos y una mejora en el sistema de vigilancia para este microorganismo (Signorini y col., 2018). A su vez, la falta de implementación de lineamientos controlados respecto a las medidas de bioseguridad en las granjas como la higiene de la indumentaria y botas de los trabajadores, la cantidad de veces que el trabajador ingresa en el galpón, el número de trabajadores que ingresan, el trabajo con otros animales de crianza, el equipamiento utilizado, la separación entre las zonas de cría y de sacrificio, la esterilización o desinfección de los materiales y utensilios utilizados, entre otros, son prácticas que deberían ser controladas para reducir la colonización de las aves por parte de *Campylobacter* (Hansson y col., 2010; Ansari- Lari y col., 2011; Newell y col., 2011; Agunos y col., 2014; Flórez, 2018, Zbrun y col., 2021; Zhang y col., 2023).

Es por esto que, para la prevención y control de la campylobacteriosis, es imprescindible un conocimiento más profundo de los factores epidemiológicos, la distribución del patógeno en el ambiente y los alimentos, así como el desarrollo de

herramientas de caracterización e identificación de los microorganismos patógenos aislados de animales, alimentos o muestras ambientales.

# **III- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3-1. Detección de la presencia de CT en pollos parrilleros en sistemas de producción intensivos.**

Esta tesis emplea un diseño observacional transversal de tipo descriptivo.

#### **3.1.1- Recolección de muestras en granjas comerciales de pollos parrilleros.**

Se evaluaron dos granjas de pollos parrilleros de la zona de influencia de la FCV-UNL. Las mismas fueron seleccionadas teniendo en cuenta trabajos previos realizados por el grupo de investigación, (Zbrun y col., 2013; Rossler, 2023) en los cuales se pudo evidenciar medidas de manejo distintas entre ellas. Las mismas fueron evaluadas durante los meses de primavera, ambas pertenecían a la misma empresa y se manejaban con el mismo sistema de crianza. Eran atendidas por el mismo médico veterinario y fueron muestreadas de manera escalonada.

El primer día de visita a las granjas se seleccionó un galpón al azar en cada una de ellas, (fue el mismo en los sucesivos muestreos, cada uno de ellos alojaba a 6000 pollos). Los pollos alojados en la granja comercial fueron criados siguiendo las prácticas habituales de producción de cada establecimiento. Se tomaron muestras individuales de materia fecal mediante hisopado de cloaca a treinta pollos seleccionados aleatoriamente el día que ingresaron a las granjas seleccionadas para este estudio, luego cada tres días hasta que se detectó una colonización de CT en el 100% de las muestras evaluadas. El n se determinó a través de un software al cual se le indica la prevalencia de la bacteria que se está buscando, en este caso *Campylobacter*.

Posteriormente, se continuó con la toma de muestras, pero con una frecuencia semanal hasta el día previo a la faena de los mismos (42 días aproximadamente). Cada hisopo se colocó en un tubo previamente rotulado con 4 ml de Caldo Bolton (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) suplementado con 5% de sangre equina hemolizada, cicloheximida (50 mg/l), cefoperazona (20 mg/l), trimetoprima (20 mg/l) y vancomicina (20 mg/l). Los tubos se transportaron de manera inmediata al laboratorio.

#### **3.1.2- Procesamiento de las muestras y extracción de ADN**

Una vez llegados al laboratorio los tubos se incubaron a 42°C durante 24 h en condiciones de microaerofilia (H<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub>: O<sub>2</sub>, 85:10:5) generada por desplazamiento de gases en jarras de anaerobiosis (AnaeroJar™, Oxoid, Basingstoke, Reino Unido). Transcurridas las 24 h se centrifugaron (Thermo Scientific Sorvall® RC 6™ Plus Superspeed Centrifuge, Estados Unidos) los tubos de caldo Bolton a 12.000 rpm durante 10 min (Blaser y col., 1986; Khanna y col., 2006). Posteriormente, se descartó el sobrenadante y se conservó el pellet. Por otro lado, se colocaron filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm (Sartorius AG, Goettingen, Germany) estériles sobre placas de agar modificado desoxicolato-cefoperazona-carbón activado (mCCDA) sin suplemento de antibióticos (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) (Goossens y col., 1986; Jokinen y col., 2012). Sobre cada filtro se colocó el pellet obtenido de la centrifugación y se incubó a 37°C durante 10 min, lo cual ayudo al traspaso pasivo de CT hacia el medio de cultivo, tal y como lo reportan metodologías previamente descritas (Jokinen y col., 2012; He y col., 2015). Transcurridos los 10 min se quitó el filtro con una pinza previamente esterilizada y se descartó. Las placas se incubaron posteriormente durante 48 h a 42°C en condiciones de microaerofilia.

Todas las placas de mCCDA (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), luego de la incubación de 48 h a 42°C se observaron para detectar la presencia de colonias morfológicamente presuntivas de *Campylobacter*. A partir de estas colonias se realizaron preparados frescos para observar al microscopio de contraste de fases la morfología curvada y la movilidad típica de *Campylobacter*. Además, se realizó la tinción de Gram y las prueba de la catalasa y oxidasa (On, 1996). Al confirmarse de manera fenotípica la presencia de *Campylobacter* se repicaron a otra placa de mCCDA (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) sin suplemento de antibióticos para obtener cantidad suficiente de cultivo y luego conservarlas a -80°C en medio crioprotector para su uso posterior (Terzolo y col., 1987).

### **3.1.3- Identificación de las especies aisladas mediante PCR múltiple con cebadores específicos.**

En principio se reactivaron los aislamientos presuntivos de *Campylobacter* termotolerantes conservados a -80°C en agar mCCDA sin suplemento de antibióticos (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido). La incubación se realizó a 42°C durante 48 h en

microaerofilia. Se verificó la pureza del cultivo y se observó movilidad y morfología típica de *Campylobacter* mediante microscopía de contraste de fases. A partir de cada aislamiento presuntivo se tomó una porción de cultivo con ansa de ojal y se colocó en 200 µL de agua bidestilada estéril y se hizo extracción de ADN genómico mediante la técnica de ebullición. (De Medici y col., 2003). El ADN extraído de cada aislamiento presuntivo fue utilizado como molde para la identificación molecular del aislamiento.

En primer lugar, se realizó una PCR específica de género *Campylobacter* siguiendo el protocolo propuesto por Linton y col. (1996). Las condiciones de la PCR para una reacción de 25 µL fueron las siguientes: 25 ng de ADN genómico; 0,2 mM de cada desoxinucleótido; 0,4 µM de cada *primer*; 50 mM KCl; 20 mM Tris-HCl (pH 8,3); 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; y 0,625 U de Taq PEGASUS DNA polimerasa (PB-L®). Las secuencias de los *primers* empleados se detallan en la Tabla 1. La PCR se realizó en un termociclador (HealForce®) y comprendió un paso de desnaturalización inicial de ADN a 94°C durante 4 minutos, seguido de 25 ciclos de 3 etapas: 1) desnaturalización a 94°C durante 1 minuto; 2) *annealing* a 55°C durante 1 minuto y 3) extensión a 72°C durante 1 minuto. Por último, las reacciones se sometieron a una extensión prolongada a 72°C durante 10 minutos. El análisis de los productos amplificados se realizó mediante electroforesis a 80V durante 45 minutos en gel de agarosa al 1,5% teñido con Gel Red® (Biotium®) 1 µl/10 ml, utilizando como buffer de corrida TBE 1X (Tris/Borato/EDTA). Como patrón de comparación se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb (Ladder 100pb, PBL®). Para la lectura se utilizó un transiluminador UV (Labnet®, Canadá).

Posteriormente, para la identificación de especie (*C. coli* y *C. jejuni*) se realizó una PCR múltiple siguiendo el protocolo descrito por Vandamme y col. (1997) utilizando los *primers* detallados también en la Tabla 1. Todas las amplificaciones se prepararon para un volumen final de 25 µl de reacción. Para ello se utilizó una solución que contuvo 25 ng de ADN genómico, 20 mM de TrisHCl (pH 8,3), 50 mM de KCl, 3 mM de MgCl<sub>2</sub> y cada desoxirribonucleótidotrifosfato (dNTP) en una concentración de 0,2 mM. Cada mezcla de reacción también contuvo 1U de Taq PEGASUS DNA polimerasa (PB-L®) y 20 pmol de cada uno de los *primers* (Jun3, Jun4, Col1 y Col2).

La PCR fue realizada en un termociclador (HealForce®) utilizando un protocolo *touch-down* que consistió de una desnaturalización inicial por 5 min a 94°C, 2 ciclos de

desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 64°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 62°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 60°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 58°C y extensión a 72°C por 1 min; 2 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 56°C y extensión a 72°C por 1 min y 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, *annealing* por 1 min a 54°C y extensión a 72°C por 1 min y un paso final de extensión a 72°C durante 10 min. El análisis de los productos amplificados se realizó mediante electroforesis a 80V durante 45 minutos en gel de agarosa al 1,5% teñido con Gel Red® (Biotium®), 1 µl/10 ml, utilizando como buffer de corrida TBE 1X (Tris/Borato/EDTA). Como patrón de comparación se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb (Ladder 100pb, PB-L®). Para la lectura se utilizó un transiluminador UV (Labnet®, Canadá).

**Tabla 1. Secuencia de primers utilizados en las PCR específicas de género y especie de *Campylobacter*.**

	Denominación del primer	Secuencia del primer	Tamaño del fragmento generado	Referencia
<i>Campylobacter</i>	C412	GGATGACACTTTTCGG AGC	816pb	Linton y col., 1996
	C1288	CATTGTAGCACGTGTG TC		
<i>C. jejuni</i>	Jun3	CATCTTCCCTAGTCAA GCCT	773pb	Vandamme y col., 1997
	Jun4	AAGATATGGCTCTAGC AAGAC		
<i>C. coli</i>	Col-1	AGGCAAGGGAGCCTTT AATC	364pb	
	Col-2	TATCCCTATCTACAAA TTCGC		

### 3.2- Modelado de la probabilidad de difusión de *Campylobacter* spp. dentro de un galpón.

A partir de los datos generados en este estudio fue posible hacer una estimación, mediante un modelo matemático, de la probabilidad de difusión de *Campylobacter* spp. dentro de un galpón y, consecuentemente, el número de aves portando el patógeno en función del tiempo de presencia en el galpón. Esos dos parámetros (número de aves y tiempo) son sumamente importantes cuando se desean realizar evaluaciones cuantitativas de riesgo y estimar la probabilidad de que *Campylobacter* spp. llegue a los alimentos que consume una persona y con ello, la probabilidad de enfermar.

En términos generales se acepta que la colonización de las aves por *Campylobacter* spp. se da por ruta fecal-oral y que el microorganismo permanecerá en las aves por el resto de su vida productiva. Por lo tanto, este modelo sólo contempla animales en dos estados, susceptible o infectado (colonizado).

Bajo esta premisa, la probabilidad de que un ave dentro de un galpón esté colonizada con *Campylobacter* spp. sigue la siguiente expresión logarítmica:

$$p(t) = \frac{\exp(\alpha + \beta(tj - te))}{1 + \exp(\alpha + \beta(tj - te))}$$

Donde:

$$\alpha = \log \left( \frac{p(t_0)}{1 - p(t_0)} \right)$$

$\beta$ = tasa de transmisión del agente

tj= tiempo de exposición en el galpón

te= tiempo hasta el primer aislamiento en el galpón

Se empleó un modelo logístico dado que se lo considera como un modelo apropiado para describir el crecimiento de agentes biológicos en ambientes naturales (Dogan y col., 2019). La tasa de transmisión ( $\beta$ ) fue estimada con la siguiente expresión:  $\exp \sim \text{Normal}(0,432;0,031)$ , la cual permite capturar la variabilidad intrínseca en dicho parámetro (Zbrun y col., 2022).

A su vez, se estimó el número de aves colonizadas por *Campylobacter* spp. en un momento determinado de la crianza. Para ello se empleó la siguiente ecuación reportada previamente por Dogan y col. (2019).

$$N_{wf} = \frac{I_0 \times N_{galpón}}{I_0 + (N_{galpón} - I_0) \times e^{-\beta(ts-te)}}$$

Donde  $I_0$  es el número inicial de aves infectadas,  $N_{galpón}$  es el número de aves presentes en el galpón,  $\beta$  es la tasa de transmisión de *Campylobacter* spp.,  $ts$  es el tiempo hasta la faena de las aves y  $te$  es el día en el que se dio la primera colonización por *Campylobacter* en el galpón.

### **3-3. Estudio de la presencia de CT en el cascarudo (*Alphitobius diaperinus*) presente en las camas de las granjas.**

El muestreo de los cascarudos en su forma adulta como larval se realizó siguiendo la misma dinámica en el tiempo que para el muestreo de los pollos.

Se tomaron muestras de cascarudos de diferentes partes de la cama del galpón de la granja, tanto en su forma adulta como larvaria. Las mismas fueron cinco (de aproximadamente 500 g cada una), las cuales se colocaron en bolsas de nylon transparentes (Hazeleger y col, 2008), para luego ser trasladadas al laboratorio. Una vez allí fueron procesadas de la siguiente manera:

- *Adultos de Alphitobius diaperinus (AD Adultos)*: Se realizó la separación de los cascarudos del resto del material y luego se seleccionaron quince cascarudos adultos. Los mismos fueron sometidos a un proceso de desinfección externa con hipoclorito de sodio al 30%. Luego de la desinfección se enjuagó con abundante agua destilada estéril. Posteriormente, los cascarudos fueron colocados de manera individual en quince tubos estériles donde se los rotuló y trituró con una pinza estéril. Luego se les agregó 4 ml de caldo Bolton a cada uno. Los tubos individuales se incubaron a 42° C durante 24 h en condiciones de microaerofilia.

-*Larvas de Alphitobius diaperinus (AD larvas)*: Se realizó la separación de las larvas del resto del material y luego se seleccionaron quince larvas. La metodología que se realizó a las larvas, es la misma que la descripta en el párrafo anterior.

Inmediatamente después de la incubación antes mencionada de los cascarudos y de las larvas se procedió a centrifugar el cultivo a 12.000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y el pellet obtenido se depositó sobre filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm (Sartorius AG, Goettingen, Germany) estériles, previamente colocados sobre agar mCCDA. Las placas con los filtros se incubaron 10 min a 37° C, este procedimiento ayudo al traspaso pasivo de CT hacia el medio de cultivo, y posteriormente se quitaron dichos filtros y la placa se incubó a 42° C durante 48 h en condiciones de microaerofilia. Las colonias presuntivas obtenidas luego de la incubación fueron cultivadas en agar mCCDA 48 h a 42° C. Los aislamientos presuntivos obtenidos se confirmaron mediante microscopía óptica de contraste de fases por determinación de morfología típica y se conservaron en medio crioprotector a -80°C.

*-Pool de adultos y de larvas de Alphitobius diaperinus:* de las muestras de cama recolectadas en la granja (mencionadas previamente) se pesaron por un lado 2 gr de larvas (25 individuos aproximadamente) y por el otro 2 gr de cascarudos (20 individuos aproximadamente) (Hazeleger y col, 2008) los cuales fueron sometidos a un proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 30%. Posteriormente, los escarabajos fueron colocados en un mortero estéril para su ruptura (Hazeleger y col, 2008) y luego fueron ubicados en tubos falcón donde se les agregó caldo Bolton en una proporción de 2 g de escarabajo en 40 ml de caldo. Los *pools* fueron incubados a 42°C durante 24 h en condiciones de microaerofilia. Luego de la incubación se continuó con el mismo procedimiento que se les realizó a las muestras individuales de larvas y adultos, mencionado en el párrafo anterior.

Subsiguientemente, todos los aislamientos tanto de larvas, cascarudos y los *pools* fueron identificados a nivel de género primero y de especie (*C. coli* y *C. jejuni*) después, siguiendo la metodología detallada en el punto número 3 del procesamiento de las muestras de pollos.

### **3-4. Evaluación de las medidas de manejo adoptadas por los establecimientos productores de pollos parrilleros y diseño de estrategias de manejo para reducir la presencia de CT en ambos establecimientos.**

Para realizar esta actividad se diseñaron y ejecutaron encuestas en las granjas de crianza de pollos parrilleros, con el objetivo de identificar medidas de manejo que favorezcan la colonización de *Campylobacter* en los pollos. La encuesta fue aplicada a los encargados de cada una de las granjas y al veterinario a cargo de las mismas (ANEXO 1). Luego se realizó un análisis e interpretación de la información recolectada y se plantearon diferentes medidas de manejo que permitirán disminuir el peligro de que CT colonice el sistema gastrointestinal de los pollos parrilleros.

# **IV- RESULTADOS**

#### 4-1. Detección y probabilidad de difusión de *Campylobacter* termotolerantes en pollos de las granjas evaluadas.

Del análisis de las dos granjas se pudo evidenciar una detección de CT en todos los pollos evaluados al final de la crianza. A su vez, se observó que en la G1 no hubo detección hasta el día 4 de vida de los pollos, alcanzando cerca de un 70% de CT detectado al día 7 y luego cerca del 98% al día 10. El 100% de detección se logró al día 13 de vida de los mismos. Por su parte en la G2, se observa detección de CT a partir del día 3 de vida, alcanzando un 9% al día 7, valor que fue aumentando a través del tiempo hasta alcanzar una colonización completa por CT (100%) al día 19 (Figura 1).

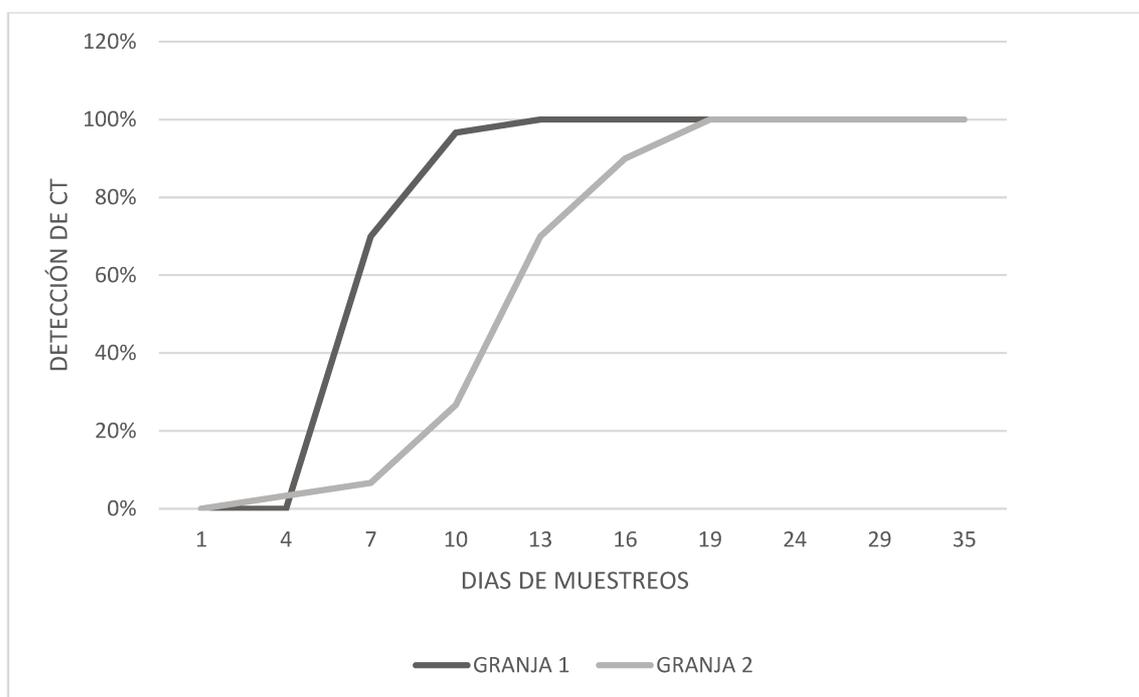
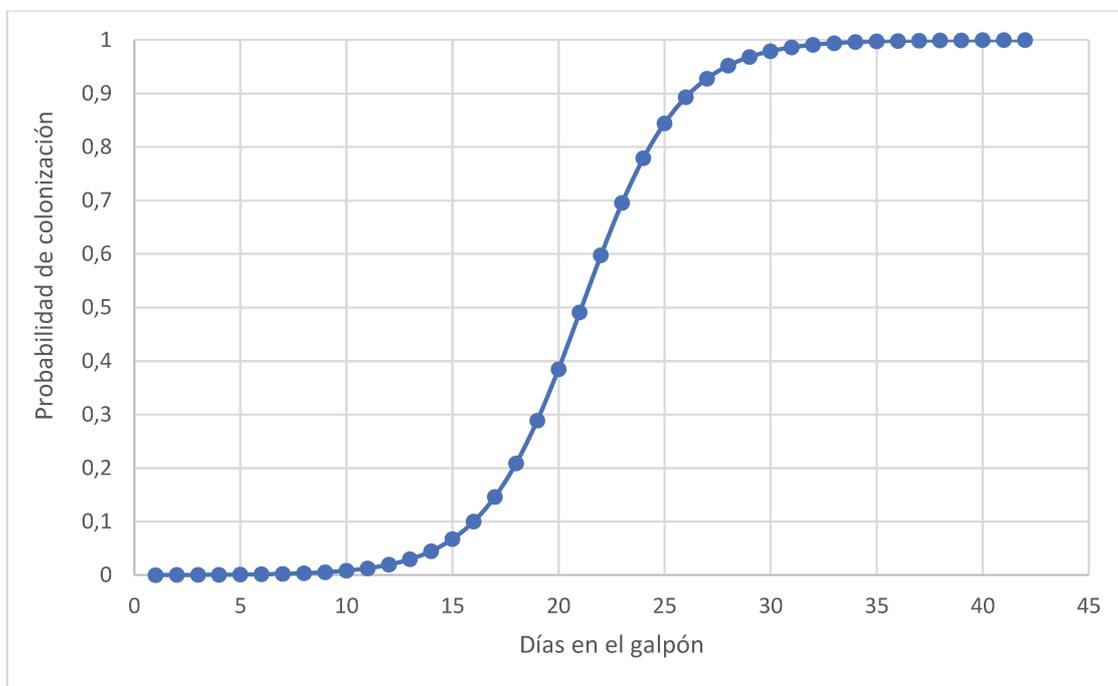


Figura 1. Detección de *Campylobacter* termotolerantes en pollos de las granjas evaluadas.

El resultado del modelo de evaluación de probabilidad de difusión para ambas granjas, indica que el tiempo hasta la primera ave positiva en el galpón ( $t_e$ ) tuvo un tiempo promedio de 10,14 días, con una desviación estándar de 1,45 días y no fue antes de los 7 días de ingresadas las aves al galpón. En la Figura 2 se observa el modelo logístico que predice la probabilidad de infección conforme avanza el tiempo de permanencia de las aves en los galpones de acuerdo a los datos generados por este estudio. En este sentido,

se identifica que al momento de la faena (42 días aproximadamente) la totalidad de las aves que forman parte de un galpón están colonizadas de acuerdo al modelo elaborado.



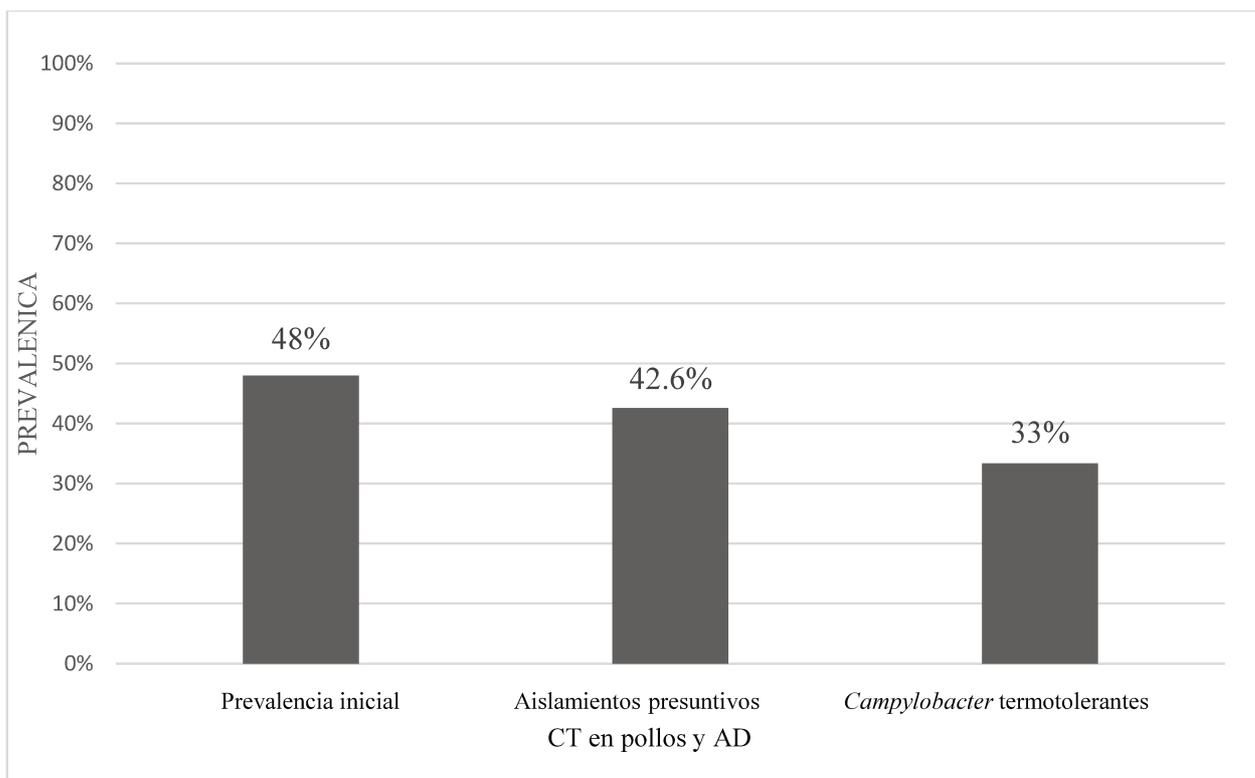
**Figura 2: Probabilidad de difusión de *Campylobacter* spp. dentro de los galpones de crianza de pollos.**

Teniendo en cuenta los resultados de la detección en granja de CT en pollos parrilleros y el resultado del modelo matemático, podemos inferir que este último se ajusta de manera adecuada a lo que ocurre con la difusión de los CT en la camada de aves alojadas en los galpones.

#### **4-2. Prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en las granjas evaluadas.**

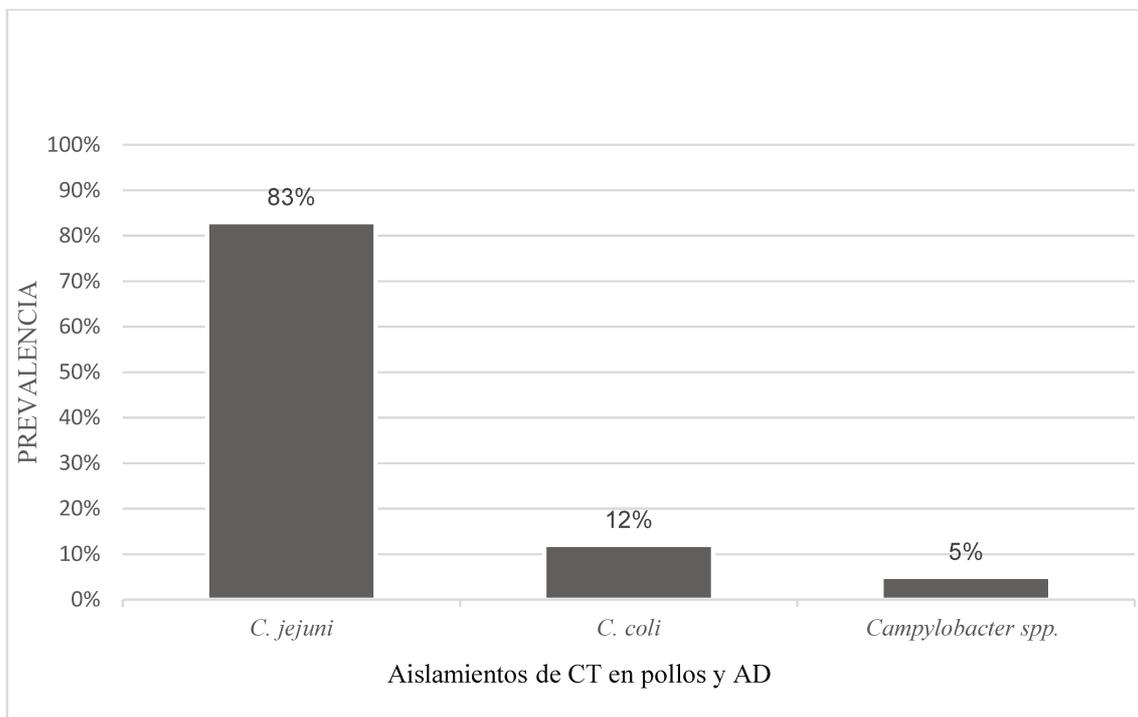
Del análisis de la totalidad de las muestras obtenidas de pollos y *Alphitobius diaperinus* en un ciclo de crianza en ambas granjas (n=1240), se pudo determinar que 598 fueron positivas (48%= 598/1240) para la presencia de colonias presuntivas de *Campylobacter* termotolerantes en agar mCCDA prevalencia inicial (Figura 3). Sin embargo, sólo se pudieron repicar y obtener 528 (42,6%= 528/1240) aislamientos presuntivos para *Campylobacter* termotolerantes, de los cuales 415 (33%= 415/1240)

aislamientos pudieron ser confirmados a nivel de género como *Campylobacter* termotolerantes e incorporados a la colección del laboratorio. Los restantes 113 aislamientos presuntivos no tuvieron la capacidad de sobrevivir a los diferentes repiques en placa o no amplificaron en la reacción de PCR de especies evaluadas.



**Figura 3. Prevalencia inicial, prevalencia de aislamientos presuntivos y de aislamientos confirmados de *Campylobacter* termotolerantes de pollos y *Alphitobius diaperinus* en granja.**

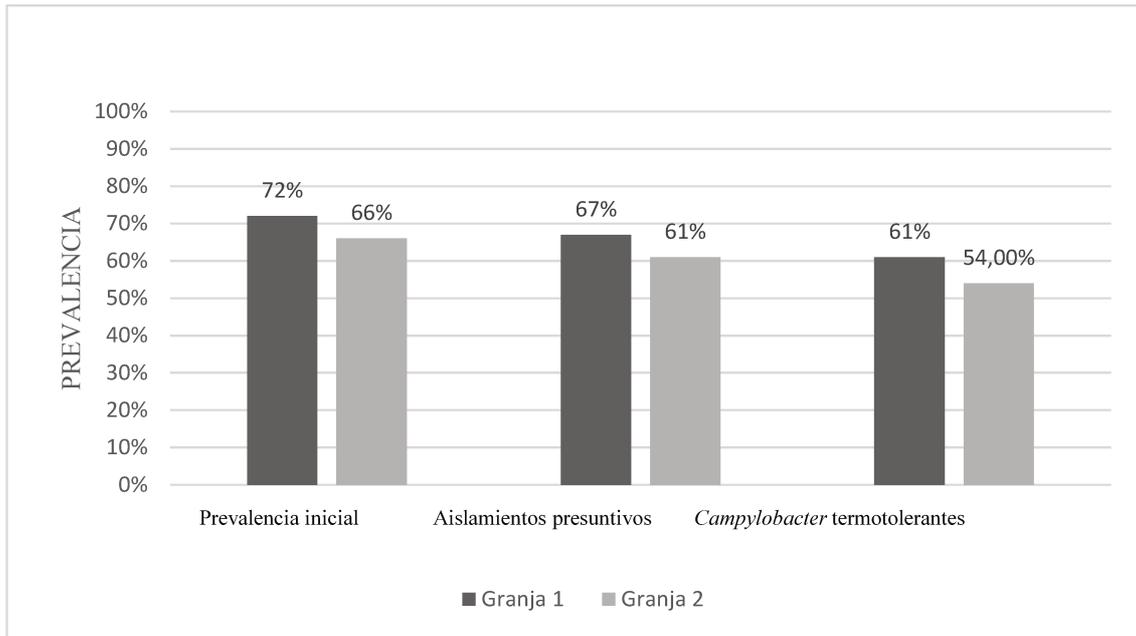
En cuanto a las especies de *Campylobacter* se pudieron identificar en ambas granjas las especies de *C. jejuni* y *C. coli*, así como también aislamientos solo identificados a nivel de género pero que no amplificaron para ninguna de las dos especies más prevalentes (Figura 4).



**Figura 4. Prevalencia de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter spp.* total, en muestras de pollos y de *Alphitobius diaperinus* en granja.**

#### **4-2.1-Prevalencia de CT en Pollos parrilleros.**

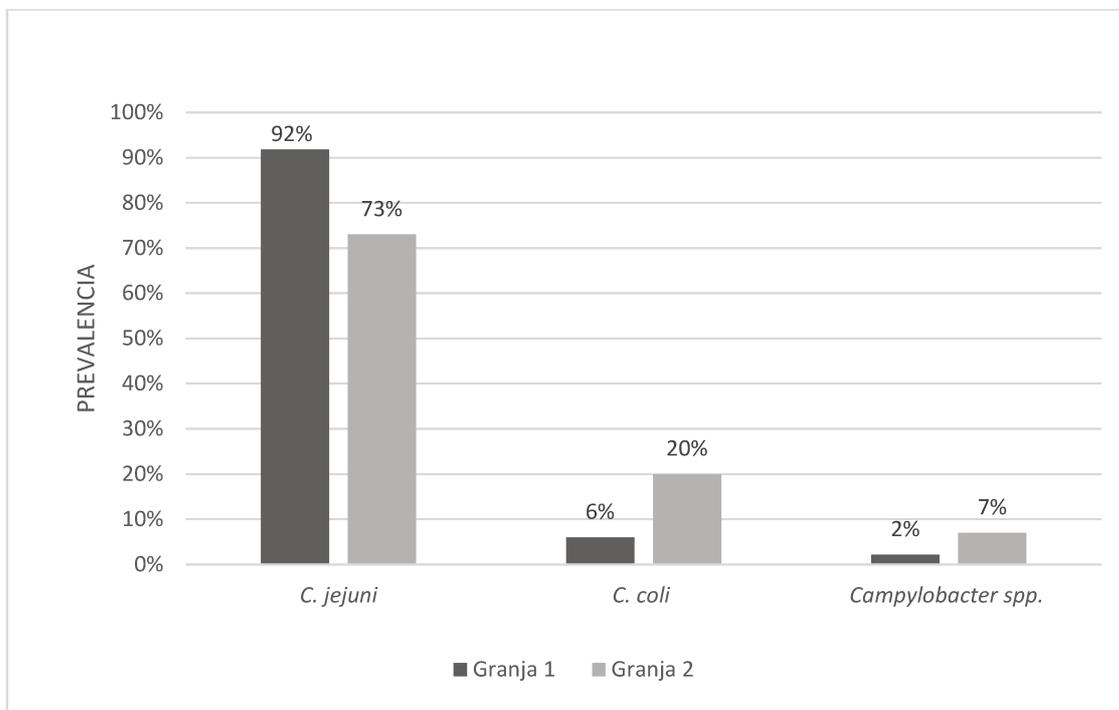
El mismo análisis se realizó para cada una de las muestras tomadas a partir de materia fecal de pollos (Figura 5). Para el caso de la G1, de la totalidad de muestras de pollos evaluadas (n=300), se detectaron 216 muestras positivas para *Campylobacter* termotolerantes (Prevalencia inicial). Sólo 200 fueron aislamientos presuntivos de *Campylobacter* termotolerantes y 183 fueron confirmados a nivel de género como *Campylobacter* termotolerantes. Los restantes 17 aislamientos fueron incapaces de sobrevivir el cultivo en placa o no amplificaron en la reacción de PCR de género.



**Figura 5. Prevalencia inicial, prevalencia de aislamientos presuntivos y de aislamientos confirmados de *Campylobacter* termotolerantes de pollos en cada granja.**

Para la granja 2 (Figura 5), de 300 muestras tomadas de pollos, 199 fueron positivas en la detección de *Campylobacter* termotolerantes (prevalencia inicial). Se obtuvieron 182 aislamientos presuntivos de *Campylobacter* termotolerantes y 165 aislamientos fueron confirmados a nivel de género como *Campylobacter* termotolerantes. Los restantes 17 aislamientos fueron incapaces de sobrevivir el cultivo en placa o no amplificaron en la reacción de PCR de género.

Continuando con el análisis a nivel de especie de los aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes obtenidos de pollos en cada granja (Figura 6), se observó que tanto para la G1 como para la G2 se obtuvieron mayores proporciones de *C. jejuni* respecto de *C. Coli* (168/183 y 120/165, respectivamente). Sin embargo, en la G2 se obtuvo una mayor proporción de *C. coli* (32/165) que en la G1. En las dos granjas se obtuvieron aislamientos que no pudieron ser identificados a nivel de especie (4/183 en granja 1 y 13/165 en granja 2).

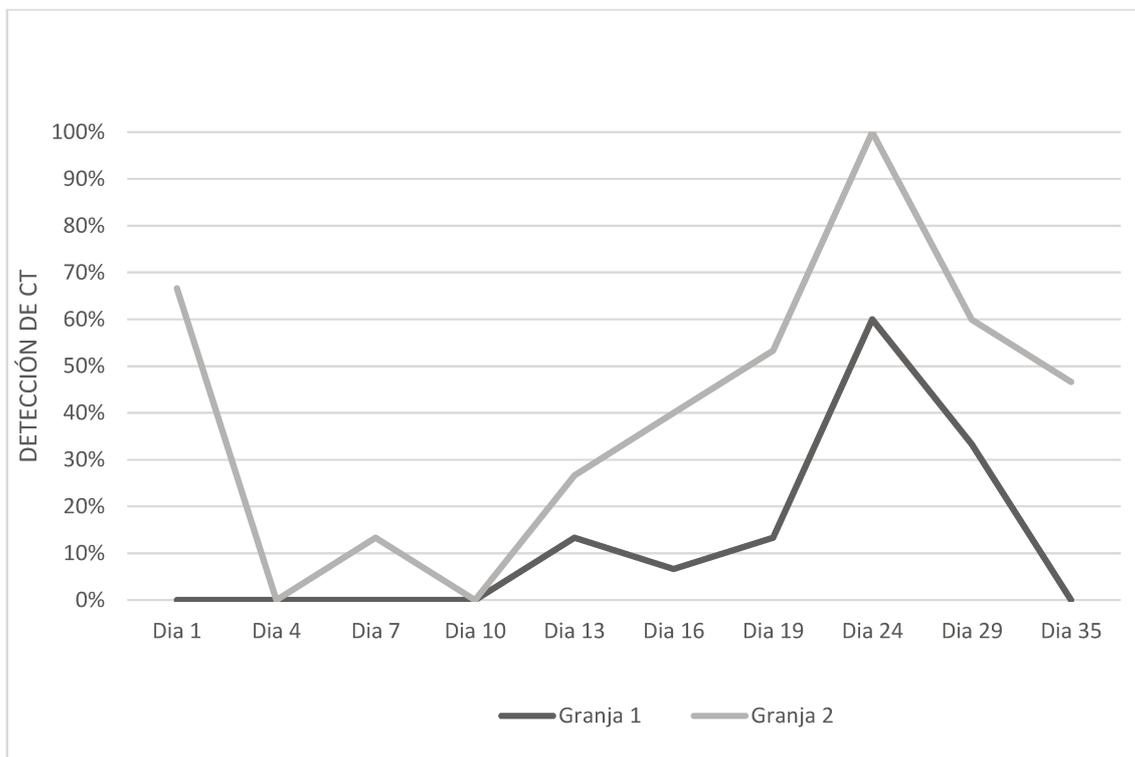


**Figura 6. Prevalencia de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter spp.* en pollos de cada granja.**

#### **4-2.2- Prevalencia de CT en *Alphitobius diaperinus*.**

Al analizar los datos de la forma adulta del cascarudo, se pudo determinar que en la G1 no se observa CT hasta el día 10, y que empieza a estar presente a partir del día 13 en la G1 con aproximadamente un 11% de las muestras analizadas. En la G2 se encontró presencia de CT en los cascarudos a partir del día uno de vida de los pollos; observándose posteriormente fluctuaciones en la presencia de CT hasta el día 10, con un posterior incremento en la presencia de CT en los cascarudos.

Cabe destacar que ambas granjas llegaron a su pico máximo de prevalencia de CT en cascarudos adultos, el día veinticuatro y luego bajaron notoriamente su presencia hacia el final de la crianza (Figura 7).

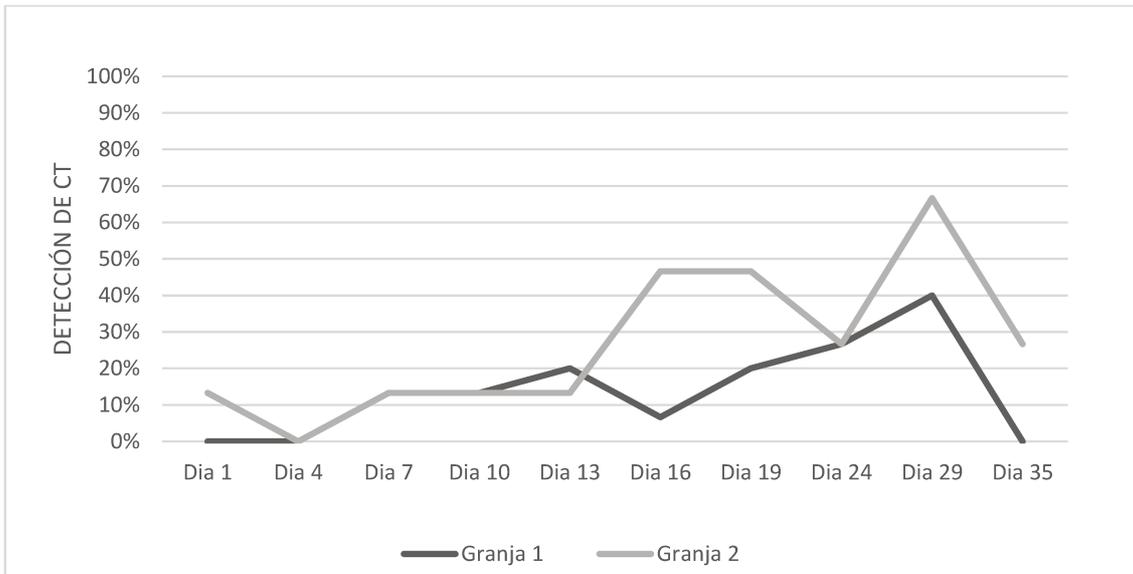


**Figura 7. Detección de *Campylobacter* termotolerantes en adultos de AD en las camas de las granjas.**

El mismo análisis se realizó con las larvas de AD, y se pudo observar que, en la G1, no se tuvo presencia de CT sino hasta el cuarto día de vida de los pollos (Figura 8). A partir de allí, la presencia de CT aumentó hasta alcanzar un 20% para el día 13, reduciendo su valor a cerca de un 7% hacia el día 16, con posterior aumento hasta alcanzar un 40% el día 29 de crianza de los pollos.

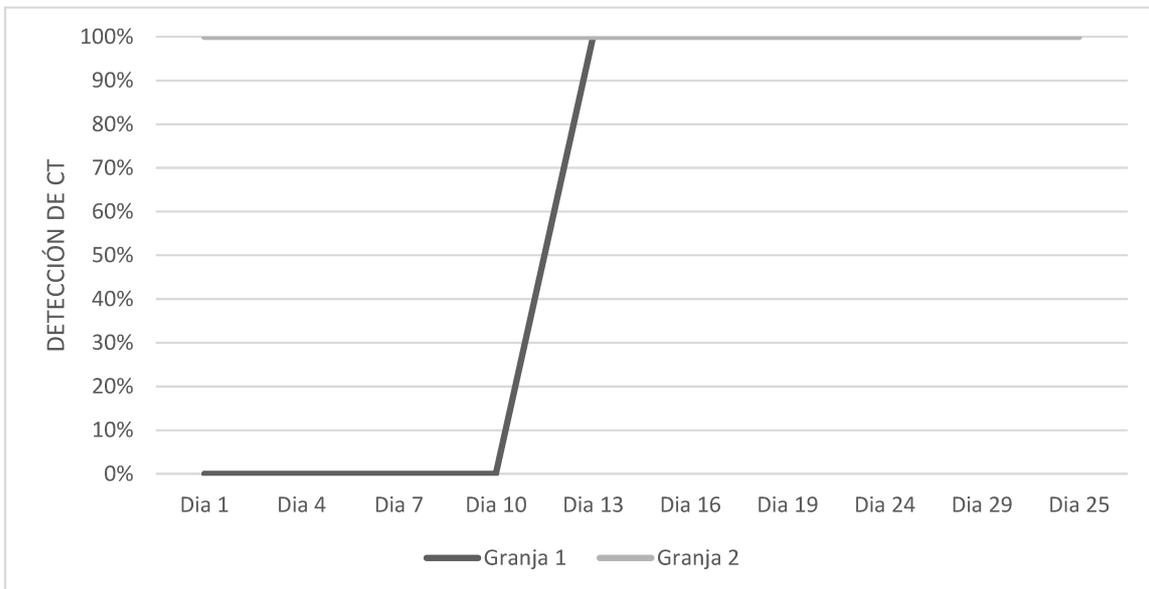
En la G2 por otro lado, se detectó presencia de CT para el día uno con cerca de un 13%, reduciendo a cero para el día 4. Posteriormente, se evidencia un aumento del 13% para el día 7, valor que se mantuvo hasta el día 13. Hacia el día 16 dicho valor incrementó alcanzando cerca de un 47% hasta el día 19, teniendo como valor máximo de detección un 67% hacia el día 29 (Figura 8).

A partir del día 29 de crianza, ambas granjas evidenciaron una disminución de la presencia de CT en larvas de AD.



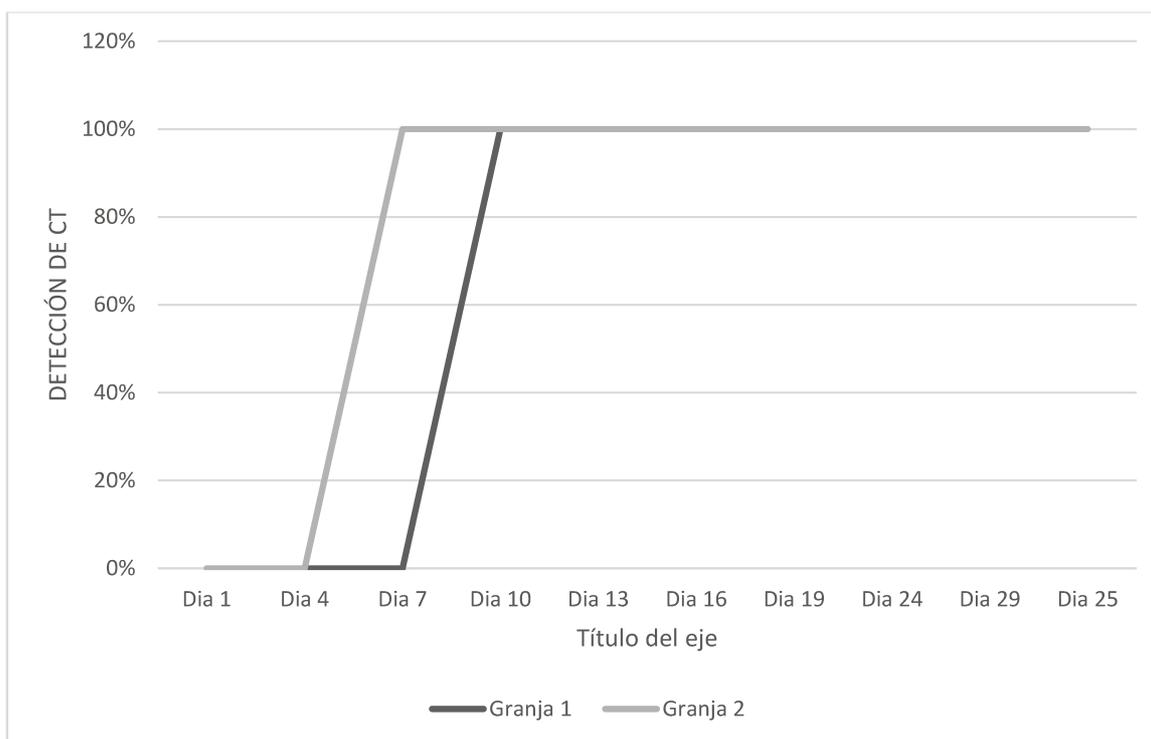
**Figura 8. Detección de *Campylobacter* termotolerantes en larvas de AD en las camas de las granjas.**

Siguiendo con el estudio de *Alphitobius diaperinus* se analizaron los *pools* de AD adultos, donde se pudo observar que en la G1 la colonización empezó el día diez de crianza, alcanzando el 100% en el día 13 de vida de los pollos. Por otro lado, en la G2 se detectó CT en el 100 % de las muestras a partir del primer día del ciclo productivo (Figura 9).



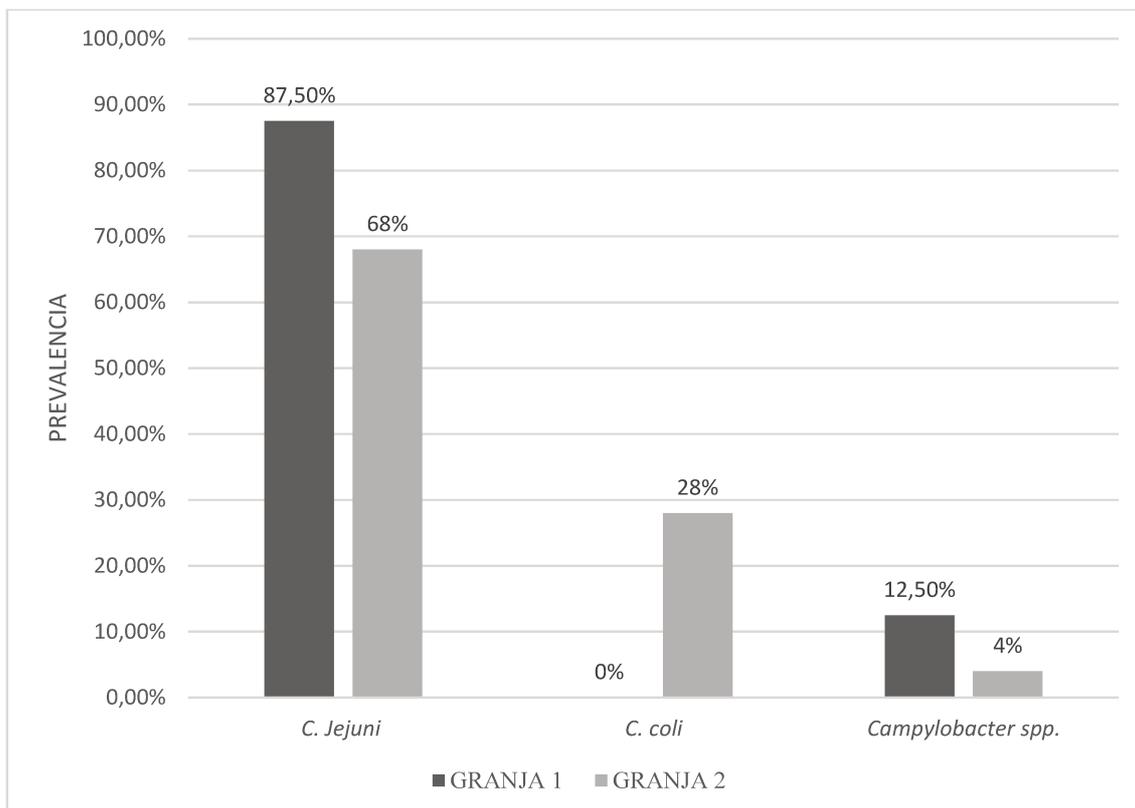
**Figura 9. Detección *Campylobacter* termotolerantes en pool de adultos de AD en las camas de las granjas**

Luego se analizaron los *pools* de larvas en donde se pudo distinguir, que en la G1 la detección de CT comenzó a partir de la muestra tomada el día 7, alcanzando la detección del 100% de las muestras el día 10. Para la G2 la detección de CT inicial fue en las muestras del día 4, llegando al 100% antes del día 7 de vida de los pollos, manteniendo así ambos valores hasta el final de la crianza (Figura 10).



**Figura 10. Detección de *Campylobacter* termotolerantes en *pool* de larvas de AD en las camas de las granjas**

Posteriormente, se continuó con el estudio a nivel de especie de los aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes de *Alphitobius diaperinus* (AD) en la cama de las granjas (Figura 11), donde se pudo observar que tanto para la G1 como para la G2 se obtuvieron mayores proporciones de *C. jejuni* (21/24 y 32/47, respectivamente). *C. coli* no se encontró en la G1, mientras que en la G2 se obtuvo una proporción importante de *C. coli* (13/47). En ambas granjas se obtuvieron aislamientos que no pudieron ser identificados a nivel de especie.



**Figura 11. Prevalencia de *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter spp.* en AD aislados en la cama de pollo de cada granja.**

#### **4-3. Condiciones y medidas de manejo de los establecimientos criadores de pollo parrilleros evaluados en este estudio.**

##### **Información obtenida de las encuestas realizadas a las dos granjas de pollos parrilleros comerciales. (Anexo 2)**

De las encuestas realizadas en las granjas al personal que allí trabajaba y al médico veterinario encargado de las mismas, se realizó una descripción comparativa y un análisis de las formas de manejo. **También se examinaron los puntos críticos que son importantes a la hora de disminuir la prevalencia de *Campylobacter*.**

Comenzando con el análisis de la encuesta de la Granja uno (G1) se observó que el **cercos** perimetral no estaba desmalezado y el portón de ingreso no cumplía con los estándares necesarios para impedir el ingreso de cualquier animal, persona o vehículo al predio. Es decir, se mantenía siempre abierto y no estaba señalizado. La entrada de

vehículos al lugar no era restringida y no se contaba con un área de estacionamiento destinada para tal fin. El predio no estaba desmalezado, en el mismo se observó acumulación de basura y chatarra alrededor de los galpones, así como también circulación de animales domésticos, como perros y gatos. Se advirtió en varias ocasiones la entrada de estos animales al interior de los galpones de crianza. La estructura general del galpón era buena, compuesta de tejido romboidal; el mismo contaba con comederos manuales, los cuales no se lavaban y los bebederos eran automáticos. Los mismos no contaban con una puerta de ingreso, ni lavabotas. El agua que se utilizaba tanto para bebida de las aves, como para las tareas de limpieza del predio provenía de pozo y era tratada con cloro. También se pudo observar la presencia de aves silvestres dentro del galpón; como palomas, gorriones entre otros, así como también roedores vivos y muertos.

El piso de los galpones (cuatro galpones en la G1) era de tierra y la cama estaba constituida por cáscara de arroz, la cual se reutilizaba durante tres crianzas consecutivas. La misma se retiraba del galpón y se colocaba sobre el piso, a unos cinco metros del galpón para quitarle la humedad por medio del secado al sol. Luego de terminada la vida útil su destino final era la fertilización de campos, sin ningún tipo de tratamiento previo. El control de plagas se realizaba cuando se observaba una alta cantidad de roedores y se hacía mediante el uso de cebos o trigos.

El control de los cascarudos de la cama se realizaba 72 horas antes del ingreso de las aves al galpón. El mismo se realizaba mediante fumigación con cipermetrina al 5% en polvo, a través de una máquina que echaba el producto en forma de humo sobre la cama.

Cuando se presentaba alguna enfermedad en las aves, se realizaba un tratamiento curativo sobre todo el galpón, generalmente aplicando enrofloxacin en el agua de bebida. La mortalidad en esta granja era del 6% aproximadamente.

La vestimenta y el calzado del personal, era el mismo que usaban tanto dentro como fuera de la granja, durante la jornada laboral. Los empleados no recibían capacitación, solo tomaban indicaciones por parte del médico veterinario encargado, quien sí realizaba capacitaciones.

Siguiendo con las encuestas se pudo obtener información sanitaria de las aves, por parte del médico veterinario, quien mencionó que los pollos recibían una vacuna el primer día de vida, en la planta de incubación. Esta era contra coccidiosis, bronquitis tipo 1 y 2, Marek y Gumboro. El día de ingreso de las aves a la granja, se colocaba papel madera

sobre la cama. Este duraba aproximadamente siete días y tenía la función de aislamiento (evitar que los pollitos ingieran material de la misma). Las aves que sucumbían, eran llevadas a una fosa séptica y cubiertas con cal. La misma estaba dentro del predio, distante a unos seis metros del galpón donde estaban las aves.

En la granja dos (G2) se pudieron observar diferencias significativas en cuanto a la estructura de la granja y a las medidas de manejo. En este establecimiento se evaluaron cuatro galpones. Esta granja estaba ubicada a unos diez kilómetros de la ciudad y el predio contaba con varias hectáreas, a diferencia de la G1 que se encontraba a un kilómetro de la ciudad y el lugar disponía de un área mucho más reducida. Al ingresar a la granja había carteles indicativos y cada galpón estaba numerado. El pasto alrededor de los galpones se mantenía siempre corto, no había presencia de animales domésticos. En el ingreso al galpón había un área de recepción en donde se hacía el cambio del calzado habitual a botas de goma y cubre calzado, el mismo no contaba con lavabotas. La estructura del mismo era muy buena, compuesta de tejido romboidal cubierta de tela mosquitera. La puerta de ingreso se mantenía siempre cerrada. El momento de vacunación y el tipo de vacuna que recibían las aves era igual que en la G1. Días antes del ingreso de las aves se realizaba una fumigación en todos los galpones al igual que en la granja uno. Un dato importante a destacar en esta granja y en este ciclo de crianza en particular fue que el papel madera de la cama, se colocó 48 horas posteriores al ingreso de las aves al galpón. El personal usaba ropa de trabajo para realizar las tareas dentro de la granja, la cual era sustituida por otra al salir de la misma. Cabe mencionar que la cama que se analizó en este estudio en ambas granjas era reciclada (primer reciclaje). El proceso que recibieron ambas camas, fue el secado al sol para quitar la humedad y fumigación con cipermetrina al 5%, 72 horas antes del ingreso de las aves.

#### **4-4. Diseño de medidas de manejo a aplicar en las granjas evaluadas con el objeto de disminuir la prevalencia de CT en pollos destinados al consumo humano.**

En esta sección, se sugieren lineamientos que de ser aplicados contribuyen a disminuir la prevalencia de CT en las granjas. Si bien se detallan de manera general para ambos establecimientos, en algunos casos particulares se mencionan estrategias diferentes de acuerdo a lo detectado en cada uno de los establecimientos.

## LINEAMIENTOS GENERALES

La **localización** de la granja es un aspecto muy importante a tener en cuenta, es por eso que los establecimientos deberán estar ubicados alejados de centros urbanos y otros sistemas de producción animal. Para ambas granjas se recomienda que la **entrada y salida** del predio tenga mecanismos de limpieza y desinfección para evitar circulación de microorganismos. En primer lugar, es necesario llevar un **registro** de las personas y vehículos que ingresan a la granja, así como también, el empleo de pediluvios para los automóviles y cambios de calzado para las personas que ingresan. Convendrá tener una zona de **estacionamiento** alejada de los galpones donde se encuentran las aves en producción. Se deberá tener presente que toda persona o vehículo que ingrese a la granja puede traer consigo agentes productores de enfermedades en su ropa y/o calzado lo que puede provocar la consiguiente enfermedad de las aves.

En la granja uno el **cercos perimetral** deberá permanecer limpio, en condiciones estructurales adecuadas y libre de malezas, materiales y chatarra en desuso. En el ingreso del **galpón** deberá haber una puerta, la cual permanecerá cerrada y deberá disponer de un lavabotas para ser utilizado por las personas que ingresan al galpón. Al tejido del galpón es recomendable colocarle una malla, que impida el ingreso de aves y en lo posible de moscas. Otro punto significativo es que todas las áreas deberán estar debidamente señalizadas, para facilitar la ejecución de los procesos y evitar errores en las operaciones. También es muy importante que haya protocolos visibles en las áreas donde se realicen tareas complejas.

Otro sitio importante a tener en cuenta en ambas granjas, ya que aquí se producían varios inconvenientes, son los **depósitos**, los cuales tendrán que estar sectorizados e independientes para el almacenamiento de los suministros, como son los productos de limpieza y desinfección, las herramientas de trabajo y un área de farmacia, para situar los medicamentos e insumos necesarios para la sanidad.

Un área no menos importante es el almacenamiento del alimento balanceado, que debe mantenerse limpio y con un estricto control de plagas. Es sabido que los **roedores** constituyen una significativa fuente de infección para las explotaciones aviares, ya que ocasionan importantes pérdidas económicas, debido al consumo del alimento, a la destrucción de materiales y a la transmisión de enfermedades. Es por ello que en la granja

uno, una buena estrategia sería implementar un buen control de roedores, el mismo debe contemplar la elección del rodenticida adecuado, así como su colocación estratégica.

Las **herramientas y equipos utilizados** en ambas granjas deben ser higienizados y desinfectados frecuentemente. Además, se les debe realizar un mantenimiento que garantice su buen funcionamiento.

Cuando culmina el ciclo productivo en la granja uno; se deberá realizar un vaciamiento de las instalaciones, para lavar y desinfectar en profundidad los **comederos**, los rincones, tirantes, el tejido y el techo, etc. También los **bebederos** deben ser drenados al final de cada crianza, lavados y desinfectados con productos aprobados para tal fin, antes del ingreso de las nuevas aves. Otro punto muy importante para esta granja, es no permitir el ingreso a los galpones de **animales domésticos** y mantenerlos alejados del predio. Ambas granjas deben cumplir un protocolo de manejo de los **residuos** generados por las aves, destinándolos por ejemplo al compostaje. En la granja uno se recomienda realizar una rápida y correcta disposición de los cadáveres de las aves, mediante la utilización de fosas realizadas con materiales que eviten la contaminación de las napas.

## LINEAMIENTOS PARA EL PERSONAL DEL ESTABLECIMIENTO

Un ítem muy importante, que merece un apartado especial es el personal que trabaja en las instalaciones, ya que son un componente fundamental dentro de la bioseguridad de la granja. Se propone que los trabajadores de la granja uno, al ingresar a la misma se duchen y utilicen ropa de trabajo proporcionada por el establecimiento, el tiempo que permanezcan realizando sus tareas. Una vez culminado el turno deberán cambiarse y dejar la ropa en el establecimiento. La misma deberá estar en condiciones y limpia al retomar el próximo turno; también es importante que los trabajadores limpien y desinfecten sus instrumentos de trabajo, en todos los procesos que realicen. Se recomienda que las personas que trabajan en la granja y están más relacionadas al contacto directo con las aves, vivan allí para evitar la entrada de microorganismos desde el exterior.

Es recomendable disponer en ambas granjas de un área acondicionada para el personal que allí trabaja, la cual sea accesible para que puedan realizar una buena higiene personal y evitar que cometan prácticas como comer, beber o fumar en áreas cercanas al galpón. Los trabajadores no deberán permanecer en esta, cuando asuman una enfermedad infectocontagiosa, los mismos deberán informarlo y asistir al médico.

Para la granja uno, sería interesante **contar con personal encargado de llevar a cabo la limpieza de toda la granja**. Esto incluye desmalezado, barrido de las zonas, lavado y desinfección de diferentes áreas, etc.

El **personal de ambas granjas deberá estar capacitado y entrenado** en el uso correcto de desinfectantes, para así asegurar la eliminación de los microorganismos. Es importante llevar un registro de todos los procesos realizados en la granja que incluyan: cambio y mantenimiento de equipos, entrada y salida de camiones y personas, uso de desinfectantes, mortalidad y morbilidad, tratamientos veterinarios, etc. Es de suma importancia realizar regularmente **capacitaciones** a todos los trabajadores de ambas granjas en temas de bioseguridad; y en el manejo de todas las actividades que se desarrollan en la granja desde el ingreso de las aves hasta su retiro. Ya que este ejercicio constante garantizará las buenas prácticas, y evitará problemas en la diseminación de *Campylobacter* como ocurrió en la granja dos.

#### CONDICIONES DE LOS GALPONES

Otro lugar muy importante, como se mencionó anteriormente, al que se le debe prestar especial atención en la granja son los **galpones**, ya que su infraestructura debe contar con protección del ambiente externo, impidiendo la entrada de roedores, aves silvestres e insectos, los cuales pueden ser vectores de microorganismos y fuentes de contaminación de las aves en producción. Deben estar ubicados en zonas altas, no anegadizas y alejadas de otras granjas de crianza. Los galpones dentro de la granja deben ser de fácil acceso, ya que deben ingresar los camiones con pollos al momento de iniciar la crianza, como así también deben salir las aves en camión al momento de enviarlas a faena. Es muy importante que el acceso al galpón de personas sea restringido y que el mismo cuente con un pediluvio. El material con que estará construido el galpón (pisos, estructuras) deberá permitir el fácil lavado y desinfección. Es necesario que exista una distancia mínima entre los mismos, para que disminuya la movilización de microorganismos a través del aire, vectores y el mismo personal.

## RECOMENDACIONES GENERALES

En este apartado se realizan recomendaciones para tres puntos fundamentales a incorporar para disminuir la prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en las granjas:

### 1- Los pollos parrilleros en su ciclo de crianza

Un punto importante a cumplir en las granjas productoras de parrilleros, para evitar el ingreso y diseminación de microorganismos a los galpones, es que las aves de producción deben poseer la misma edad de ingreso, debiendo instalarse dentro del establecimiento el sistema “**todo dentro-todo fuera**”, el cual consiste en que las aves deben ingresar todas juntas (única edad) y retirarse las mismas en conjunto del establecimiento, una vez alcanzada su terminación. A su vez se debe evitar el ingreso de aves silvestres a los galpones, controlando la integridad de la malla anti pájaros.

La **vacunación** puede considerarse un punto de partida lógico en la lucha por prevenir la colonización inicial con base en los resultados que se obtuvieron en ambas granjas.

El empleo de varios tipos de **suplementos alimenticios** para reducir la población intestinal y la tasa de eliminación de *Campylobacter* spp. en los pollos es un tema de creciente interés en el sector avícola. A continuación, se mencionan varias iniciativas a tener en cuenta como posibles opciones, en ambas granjas, de suplementos para aves: probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, bacteriocinas, bacteriófagos, extractos vegetales y marinos.

### 2- La cama del galpón.

Hay estrategias que logran mantener la cama del galpón en el mejor estado posible durante el ciclo productivo. Estas estrategias se relacionan con el manejo, la aireación, la sanitización y la examinación constante de su condición. Lo óptimo sería cambiarla en cada crianza. Podemos implementar en ambas granjas medidas tendientes a controlar estos parámetros; como por ejemplo el retiro constante o volteo en zonas húmedas y compactas del galpón, así como también utilizar la ventilación del galpón a favor, para reducir la humedad de la cama. Los análisis físico químicos más utilizados en la cama

son la temperatura, la humedad, el pH y la  $a_w$ . La temperatura de la cama tendría que ser similar a la del ambiente del galpón, cuanto mayor es la diferencia, más perjudicial es para el bienestar de las aves y favorece la proliferación de microorganismos patógenos, mientras que la humedad óptima de la cama debería estar entre 20% y 35%. Por su parte la  $a_w$  es un parámetro de evaluación de la humedad, define el agua disponible para las bacterias. Es por eso que lo ideal es que la  $a_w$  se encuentre por debajo de 0,85, ya que por encima de este nivel facilita la multiplicación de las bacterias. Otro parámetro a tener en cuenta es el pH, ya que a medida que pasa el tiempo y los sucesivos ciclos de crianza el pH se sitúa entre 8 y 9, favoreciendo la multiplicación de bacterias patógenas de importancia para la avicultura, principalmente *Campylobacter*. La evaluación del pH de la cama y la eficiente manipulación son una herramienta importante para reducir la multiplicación de microorganismos patógenos.

Cuando la cama es retirada en su totalidad, deberán realizarse procedimientos completos de higiene y desinfección para recibir el nuevo lote. Para esto, se hará un retiro de toda la cáscara de arroz y se dejará airear el piso de tierra. Luego se realizará un lavado en profundidad de todas las superficies, como son los postes, techo y tejido del galpón y finalmente, se utilizarán sustancias desinfectantes o flameado para garantizar la sanidad de los pollos. Cuando la cama va a ser reutilizada, las opciones de tratamientos pueden ser: químico o biológico.

### **3- Los insectos presentes en la cama**

Para el control y manejo de los insectos se llevan a cabo medidas tanto químicas como biológicas para disminuir la presencia de manera directa de los escarabajos e indirecta de CT. En la actualidad los medicamentos más utilizados para combatir a *Alphitobius diaperinus* pertenecen al grupo de los piretroides y organofosforados.

En conclusión, todo plan de bioseguridad debe ser fácil y práctico de aplicar en la granja, de tal manera que pueda adaptarse a los avances de la producción. En este contexto el mayor riesgo que puede tener la producción avícola es no contar con un plan de bioseguridad. Es indispensable saber que al efectuar medidas de bioseguridad en la granja se busca garantizar la sanidad de las aves, la calidad del producto final y algo muy importante; la salud de los consumidores, de allí que la bioseguridad sea una parte primordial de cualquier explotación avícola.

# V- DISCUSIÓN

En la última década la carne de pollo es el producto que presentó el mayor aumento de demanda en el mercado mundial de carnes (MAGyP,2020). Durante el año 2022 la producción mundial de carne de pollo alcanzó 102 millones de toneladas. Mientras que, en el mismo año en nuestro país, la faena nacional de aves en establecimientos con habilitación de SENASA alcanzó 751,7 millones, 1,4 % por encima del año 2021 y un consumo per cápita de carne de pollo de 45.73 kg/hab/año (MAGyP, 2022).

Es reconocido que los pollos son los hospedadores naturales de *Campylobacter* termotolerantes y que la colonización de estas aves es el principal factor para la transmisión de este patógeno a los seres humanos (EFSA y ECDC, 2011, Hermans y col., 2012; Rossler, 2023).

No obstante, la inocuidad de la carne ofrecida a los consumidores no ha sido completamente lograda (Signorini y col., 2015). Es por esto que es importante comprender los mecanismos por los cuales *Campylobacter* termotolerantes ingresa en la granja y se difunde a lo largo de toda la cadena de producción de carne aviar y persiste en sucesivos ciclos productivos.

### **5-1. Detección y probabilidad de difusión de *Campylobacter* termotolerantes en pollos parrilleros de granja.**

En el presente estudio se evaluó en primera instancia la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en pollos parrilleros desde su ingreso a la granja el día uno de vida hasta su terminación. Un resultado llamativo fue la detección de *Campylobacter* termotolerantes en pollos antes del día siete de vida. Si bien hay una diferencia respecto del tiempo de la primera colonización entre ambas granjas, es de destacar que ambas colonizaciones, se produjeron de manera temprana en el ciclo de crianza, comparado con otros estudios, donde los hallazgos han sido reportados después del día siete (Pokamunski y col., 1986; Gregory y col., 1997; Urdaneta Vargas., 2016). Una de las posibles causas que explica este resultado, podría estar relacionado directamente a falta de medidas de bioseguridad en las granjas (Hansson y col; 2018).

Además, se pudo observar que el 100% de los animales evaluados fueron positivos al día trece de crianza en la G1 y seis días más tarde en la G2. Lo anterior permite ratificar que aproximadamente en la mitad de la crianza ambas granjas estaban colonizadas por

completo (Jacobs-Reitsma y col., 1995; Urdaneta Vargas., 2016) manteniendo el 100% de la colonización hasta el final de la crianza; datos que concuerdan con la información que indica que una vez que CT ingresa en un lote de pollos, se dispersa rápidamente y coloniza el lote completo (Newell y col., 2011; Thakur y col., 2013; Sibanda y col., 2018; Rossler, 2023) debido al ciclo fecal-oral de propagación del microorganismo. Es sabido que cuando el pollo es colonizado por la bacteria, la misma permanece en el intestino de las aves hasta su sacrificio, aproximadamente hasta los 42- 45 días de vida (Hermans y col., 2010). Esto le permite al pollo dispersar la bacteria con sus deposiciones contaminando el ambiente de la granja (Sahin y col.2015). Este proceso se ve favorecido por la densidad de población en los galpones de crianza, cuanto mayor sea el número de aves, mayores son las tasas de colonización por *Campylobacter* (Skarp y col., 2016; Sibanda y col., 2018).

Un dato importante que fue recolectado en la G2 a partir de la observación en los muestreos y de la encuesta realizada, y que podría estar en parte relacionado con los resultados obtenidos, fue que el papel que se pone habitualmente en la cama antes de la llegada de los pollos a la granja, fue colocado 48 horas posteriores al ingreso de las aves al galpón. El mismo, suele estar colocado sobre la cama antes del ingreso de los pollos a la granja y cumple la función de aislamiento evitando el consumo de la misma, y acostumbra al pollito a comer de los comederos el alimento balanceado en las primeras horas, logrando ganancias de peso extra en la primera semana de edad (Quiróz, 2011).

Los resultados obtenidos hasta aquí, destacan la gran importancia que tienen las medidas de bioseguridad dentro del ciclo de producción primaria de los pollos de engorde; como son los procesos de limpieza, desinfección, cambio o tratamiento adecuado de la cama durante el vacío sanitario, control de vectores y la competencia del personal que trabaja en la granja, para garantizar un inicio de crianza libre de *Campylobacter*.

## **5-2. Prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en pollos y en *Alphitobius diaperinus* de granjas.**

En este estudio se pudo detectar *Campylobacter* termotolerantes en un número importante de las muestras analizadas de hisopado cloacal en pollos y AD en su estado larval, adulto y *pools*. Esta detección se realizó mediante morfología típica de la colonia en mCCDA y la observación de una pequeña porción de la misma al microscopio. Sin

embargo, luego de repicar dichas colonias con el objeto de aislar este microorganismo, en algunas ocasiones no fue posible obtener el desarrollo del mismo. Es por esto que en muchos casos los valores obtenidos de prevalencia reflejaron un número menor a los resultados de la detección inicial (prevalencia inicial). Esto deja en evidencia la subestimación de la prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes; lo que lleva a obtener valores de prevalencia por debajo de los iniciales y podría estar relacionado a la dificultosa tarea de cultivo y aislamiento de este patógeno (Christidis y col., 2016; col., 2017; Pintar y col., Del Collo y 2017). Un dato significativo que se ha documentado y que podría estar relacionado a los resultados de este estudio, es que la prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en las granjas de pollos, depende de varios factores entre los que se puede mencionar: estación del año, edad y tamaño de los pollos, tamaño del lote muestreado, dieta y prácticas de cría; esto es lo que podría haber generado diferencias en las prevalencias de las distintas granjas (McDowell y col., 2008; Hermans y col., 2012; Hog y col., 2016).

Respecto al estudio de las muestras de *Campylobacter* termotolerantes en pollos en ambas granjas, pudimos observar que la mayor prevalencia a nivel de especie fue de *C. jejuni*. En relación a esto, se conoce que las especies de *Campylobacter* termotolerantes relacionadas al sistema digestivo de los pollos son principalmente dos: *C. jejuni* y *C. coli*, de las cuales *C. jejuni* es considerada la especie dominante (Keller y Shriver, 2014; Sibanda y col., 2018). En relación a este resultado, sabemos que la principal especie de *Campylobacter* termotolerante encontrada en el ambiente de las granjas estudiadas fue *C. jejuni*, resultado coincidente con varios estudios anteriores. (Zbrun y col, 2013; Allain y col., 2014; Giombelli y Gloria, 2014; Vidal y col., 2016; Gharbi y col., 2018). Siguiendo con el análisis de cada una de las granjas se observó una mayor prevalencia de *C. jejuni* en la granja G1 respecto de la G2. En G2, la prevalencia de *C. coli* fue mayor respecto de la G1. Estas diferencias en los valores de prevalencias de *C. jejuni* y *C. coli* en las diferentes granjas pueden estar relacionadas a la metodología de aislamiento. Durante la etapa de enriquecimiento selectivo, la utilización de antimicrobianos para disminuir la flora acompañante podría ejercer presión selectiva y, en consecuencia, la recuperación de alguna de las especies de *Campylobacter* termotolerantes sobre la otra en determinadas condiciones, por ejemplo, de un bajo número de células o células dañadas (Ugarte-Ruiz y col., 2012; Williams y col., 2012; Vidal y col., 2013; Alaboudi y col., 2020).

A su vez, esto podría también estar evidenciando una alternancia en la especie dominante en diferentes períodos de tiempo debido a alguna ventaja competitiva de una especie sobre la otra en determinado momento (Colles y col., 2015). Una ventaja competitiva podría relacionarse al uso eficiente de nutrientes, sensibilidad a la predación de bacteriófagos o bacteriocinas u otros metabolitos antagonistas que pueden llevar al declive en número de alguna de las especies sobre la otra (El-Shibiny y col., 2007; Rossler, 2023).

Con respecto a los aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes obtenidos a partir de AD en estadio de larva y adulto, se puede mencionar que estos insectos son considerados vectores de *Campylobacter* termotolerantes y actúan como fuentes potenciales de contaminación diseminando este microorganismo en el ambiente del galpón de crianza (Hansson y col., 2010; Vandeplas y col., 2010; Royden y col., 2016; Sibanda y col., 2018). Esto concuerda con el análisis realizado por Newell y col. (2011) quienes sugirieron que estos insectos son portadores de *Campylobacter* termotolerantes e indican que, aunque la temperatura corporal de los insectos no es favorable para el desarrollo de este microorganismo, pueden ser vectores mecánicos y trasladarlo a diferentes áreas del galpón.

No obstante, en este trabajo los aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes en AD fueron obtenidos del interior de los mismos, ya que todas las muestras (larvas, adultos y *pools* de AD) fueron sometidas a un proceso de desinfección. Por lo que no solo estarían actuando como vectores mecánicos sino también como vectores biológicos, tal como lo reportado por Choo y col. (2011).

En cuanto a la colonización de AD en adultos y larvas en la G2, se pudo observar que ya el día uno de crianza *Campylobacter* termotolerantes estuvo presente. Concordando este hallazgo con el resultado obtenido en el muestreo de pollos en la misma granja. Esto hace presumir que la presencia de aislamientos positivos en la primera etapa de la crianza podría deberse a múltiples factores, como pueden ser las medidas deficientes en los procesos de limpieza y desinfección, un tratamiento inadecuado de la cama, entre otros. Es importante tener en cuenta que, en los escarabajos de la cama, la presencia de *Campylobacter* termotolerantes sería un importante factor involucrado en la colonización ya que el ciclo de vida de estos insectos puede ser de 2 meses hasta 1 año, por lo que

persistirían en varios ciclos productivos de pollos consecutivos favoreciendo así la permanencia y difusión de *Campylobacter* (Rossler y col., 2018).

Del estudio de los *pools* de AD de larvas y de adultos se pudo observar que en ambas granjas se alcanzó la positividad completa, antes de la mitad de la crianza y se mantuvo al máximo porcentaje hasta el final del estudio. No sucedió lo mismo con las muestras individuales de AD de larvas y adultos, las cuales presentaron altibajos con mesetas a lo largo de toda la crianza en ambas granjas. Presentando los picos de colonización más altos casi al final del ensayo, los cuales disminuyeron hacia el final de la crianza. Esto concordaría con trabajos anteriores que mencionan que la población del AD crece exponencialmente en el inicio de la crianza debido a la disponibilidad de alimento y las condiciones de temperatura y humedad favorables; luego el pollo consume el escarabajo favoreciendo de este modo el control del insecto por parte del ave y al finalizar la crianza de las aves, los escarabajos se van hacia lugares del galpón más oscuros como rincones, grietas y techos (Cecco y col., 2005). Se cree que estos insectos juegan un papel importante en la transferencia de *Campylobacter* ya que existe evidencia de relación entre cepas de *Campylobacter* obtenidas a partir de estos insectos y pollos de crianza durante el mismo ciclo productivo, así como también en ciclos productivos consecutivos de crianza (Rauber Würfel y col., 2019).

Del análisis, de la prevalencia de *C. jejuni* en *Alphitobius diaperinus* (AD) en la cama de ambas granjas, podemos mencionar que, se encontró presencia en ambas. Siendo más prevalente *C. jejuni* en la G1. Por consiguiente, esto hace presumir que los insectos podrían actuar como vectores tanto de *C. jejuni* como de *C. coli* dependiendo de la especie de *Campylobacter* termotolerantes que sea predominante en el galpón de crianza (Rauber Würfel y col., 2019, Rossler, 2023). Coincidiendo este resultado con los datos obtenidos en los muestreos de pollos, donde también predominó *C. jejuni* (Rossler, 2023).

En cuanto a la prevalencia de *C. coli* en AD, podemos señalar que solo se encontraron muestras positivas en la G2, mientras que en la G1 no se encontró presencia de esta especie en los insectos. Esto podría estar relacionado a la metodología de aislamiento o a alguna ventaja competitiva de una especie sobre la otra en determinado momento (Colles y col., 2015). También se hallaron aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes que no pudieron ser identificados a nivel de especie (Semaan y col., 2014; Torralbo y col., 2014).

### **5-3. Condiciones y medidas de manejo en las granjas.**

La bioseguridad en las granjas avícolas conlleva un conjunto de habilidades y maniobras fundamentales, que de ser llevadas a cabo de manera adecuada garantizan evitar el ingreso y transmisión de agentes patógenos en las explotaciones, minimizando así el impacto negativo que pueden tener en la producción avícola. Medidas de bioseguridad efectivas para el control de *Campylobacter* en granja, no sólo conseguirían reducir la alta prevalencia de lotes positivos a la edad de sacrificio, sino que indirectamente mejorarían el estatus sanitario general de la granja (Cantero Portillo, 2017)

Es importante destacar que el manejo y las actividades desarrolladas por el personal en las granjas de manera rutinaria, como la alimentación, limpieza y control sanitario, son muy variables entre las diferentes granjas, compañías y países, y son factores muy importantes en la contaminación y diseminación de *Campylobacter* (Newell y col., 2011). Es aquí donde se destaca la necesidad de capacitar al personal en cuestiones de manejo y bioseguridad.

Como se mencionó con anterioridad, se encontró en este estudio una mayor prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes en la G1 respecto de la G2, esto podría deberse a que existían entre las granjas diferencias respecto a las condiciones de higiene y estado edilicio de los galpones de crianza (Robyn y col., 2015; Umaraw y col., 2017). Sin embargo, los resultados positivos a la presencia de CT, encontrados en la primera semana de crianza en la G2, a pesar de contar con mejores condiciones estructurales que la G1, en cuanto a la pronta colonización del lote de pollos e insectos, podría estar directamente relacionados al manejo del galpón por parte del personal de la granja, quienes manifestaron tener algunos problemas de organización en las tareas que debían llevar a cabo. Otro punto importante que se detectó en este estudio y se ha mencionado en estudios previos, es que los trabajadores pueden transportar este microorganismo en su vestimenta o en sus botas (Cardinale y col., 2004).

Por otro lado, *Campylobacter* suele estar ausente en la cama de crianza nueva o el alimento balanceado (Bull y col., 2006; Thakur y col., 2013). Sin embargo, es de destacar que, en este estudio, las encuestas aportaron datos que podrían estar relacionados con la presencia de CT en donde se mencionó que la cama del galpón era de primer reciclaje y que los comederos nunca fueron lavados. La implicancia sanitaria de la reutilización de la cama es una preocupación para la avicultura mundial, pues las camas contaminadas

pueden actuar como reservorio de patógenos aviares y zoonóticos, relacionados con la seguridad alimentaria (cuando las aves contaminadas entran en la planta de procesamiento), así como con la seguridad ambiental (Silva, 2013). Lo mencionado anteriormente nos podría llevar a reflexionar sobre la reutilización de la cama de crianza y la contaminación de los comederos con heces de los pollos, estos pueden ser factores que contribuyan a la aparición de este microorganismo en las muestras evaluadas (Kassem y col., 2010; Silva y col., 2011; Rauber Würfel y col., 2019).

Por otro lado, se pudo comprobar en este estudio la presencia del escarabajo *Alphitobius diaperinus* en la cama de los galpones evaluados, el cual presenta una distribución mundial gracias a su capacidad adaptativa, su reproducción continua y su comportamiento, haciendo de esta plaga un reto en cada granja avícola (Martínez López, 2023). Datos relevantes obtenidos de este ensayo indican sobre su presencia desde el día inicial del ciclo productivo, sumado a la presencia en ellos de CT, destacándose la prevalencia de *C. jejuni* respecto de *C. coli*. Siendo este uno de nuestros objetivos de estudio, es fundamental lograr buenos resultados en el control de *Alphitobius diaperinus* implementando un manejo integral de bioseguridad en las granjas avícolas. En relación a esto se ha descrito un tratamiento biológico, que puede realizarse en la cama por fermentación (amontonamiento anaeróbico) o por inhibición competitiva (*Bacillus subtilis*) y por otro lado un tratamiento químico, que puede llevarse a cabo por medio de la aplicación de cal o productos acidificantes (Irisarri, 2013)

La mayoría de las estrategias para controlar este insecto se basan en la aplicación de insecticidas químicos de corto efecto residual. Sin embargo, su uso y su eficacia son limitados por la continua presencia de aves en las granjas y por la posible resistencia de algunos de los insecticidas del mercado actual. Varias formulaciones de insecticidas a base de carbamatos y fosforados están registradas para su uso contra el *Alphitobius diaperinus*. Actualmente varios piretroides también están registrados y han sido utilizados como tratamientos para su control. La combinación de un insecticida adulticida (piretroide) y un insecticida larvicida (regulador de crecimiento) mostraron un excelente control de los escarabajos adultos y larvas (Geden y Hogsette, 1994; Salin y col., 2003). En cuanto a las medidas de prevención, que se podrían instaurar sobre los pollos parrilleros, se destacan intervenciones como el uso de aditivos en el balanceado y agua, los cuales tendrían un potencial para el control efectivo de este patógeno y su diseminación dentro de la cadena alimentaria (Lu y col., 2021).

Por otro lado, el uso de diversos tipos de suplementos alimenticios para reducir la población intestinal y la tasa de excreción de *Campylobacter spp.* en aves de corral es un área de creciente interés en la industria avícola. Existe la necesidad de intervenciones efectivas que puedan aplicarse en la industria avícola para reducir la colonización de las aves de corral con *C. jejuni* y, posteriormente, reducir la exposición del consumidor a este patógeno (Line y col., 2008). Dichos suplementos incluyen probióticos y prebióticos, ácidos orgánicos, bacteriocinas y bacteriófagos, que pueden añadirse al alimento y al agua.

En la actualidad, el uso de probióticos en animales de producción está destinado a mejorar la conversión alimenticia, a promover el crecimiento y a inhibir el desarrollo de bacterias patógenas (Frizzo y col., 2011). La manipulación de la microbiota intestinal a través de la administración de probióticos puede estimular el sistema inmunitario de diversas maneras, generando una mayor actividad de macrófagos y una mayor capacidad para fagocitar partículas de microorganismos, incrementando la producción de inmunoglobulinas G y M e interferón  $\gamma$ , y aumentando los anticuerpos locales en las superficies mucosas (IgA) (Blajman y col., 2015). En relación a lo antes mencionado, el empleo de probióticos en la producción de pollos parrilleros podría ser una estrategia para mejorar las condiciones sanitarias y de producción de ambas granjas, asegurando de esta manera la inocuidad alimentaria. Las vías de administración más utilizadas en pollos parrilleros son la inclusión en el agua de bebida, la pulverización, la incorporación en los comederos o el agregado a las raciones y, finalmente, la aplicación en dosis individuales. Ciertos estudios indican que la adición de los probióticos en el agua de bebida ocasiona una mejora en la productividad (Blajman y col., 2015). Teniendo en cuenta la información brindada por este trabajo, el momento ideal de administración para ambas granjas sería al inicio de la crianza, debido a los resultados que se pudieron obtener en este estudio. Trabajos publicados indican que la aplicación de probióticos en pollos los primeros días de vida, reducen significativamente la frecuencia de eliminación de *Campylobacter* (Morishita y col., 1997). Las tendencias actuales en los sistemas intensivos de producción postulan a los probióticos, como una eficaz alternativa contra *Campylobacter*; para reducir la presencia del mismo en los galpones (Blajman y col., 2015; Díaz-López y col., 2017).

La adición de prebióticos en la alimentación de las aves es otra opción que podría ser viable ya que, generalmente origina una disminución detectable en las poblaciones de

*Campylobacter* spp. en el tracto gastrointestinal (Froebel y col., 2019). Si bien la vacunación contra CT podría considerarse como un punto de partida lógico en la lucha por prevenir la colonización inicial con base en los resultados que se obtuvieron en ambas granjas, aún no se cuenta en el mercado con un producto comercial.

Por otro lado, se ha demostrado que la implementación de barreras de bioseguridad y el mejoramiento de la higiene de los trabajadores reduce la colonización de *Campylobacter* en los pollos (Newell y col., 2011). Asimismo, se ha verificado que la cantidad de trabajadores que componen el staff de trabajo y la cantidad de veces que cada trabajador ingresa en el galpón de crianza, son variables que deben tenerse en cuenta (Ramabu y col., 2004; Saleha, 2004) dentro de las medidas de manejo del galpón, para evitar o reducir la contaminación por *Campylobacter*. De aquí la importancia que tendría capacitar al personal, ya que ellos son los que están en el día a día de la granja.

Un resultado no menos relevante fue el hallazgo de la presencia de aves silvestres dentro del galpón, en la G1 se observó su presencia en varios muestreos; pudiendo ser esta una posible fuente de infección de *Campylobacter*. Es sabido que el entorno de la granja proporciona hábitats atractivos de alimentación y reproducción para algunas especies de aves que se ha informado que son portadoras de *Campylobacter* spp. (Hald y col., 2015). Sin embargo, se desconoce cómo es el ciclo de transmisión entre pollos y aves silvestres y si las aves actúan como fuente de infección o solo son un receptor del patógeno (Newell y col., 2011). En correlación a esto, hay indicios de la relación existente entre cepas aisladas de los pollos de crianza y de aves silvestres (Newell y col., 2011; Sheppard y Maiden 2015; Rossler, 2023).

Concluyendo en que todas las medidas de control y prevención que se podrían llevar adelante en las granjas, es decir en la producción primaria, son de vital importancia, ya que como sabemos *Campylobacter* puede salir de la granja, llegar al frigorífico, de allí a la góndola y por último a la mesa de los consumidores.

# **VI- CONCLUSIONES**

Los resultados de este estudio determinaron el momento en el cual *Campylobacter* termotolerantes, es detectado en los pollos parrilleros alojados en los galpones de las granjas comerciales. Se pudo evidenciar que la colonización dentro de un galpón de pollos es rápida, pudiéndose determinar en este estudio que antes de la mitad del ciclo productivo, el lote completo se encontraba colonizado.

También se encontró una prevalencia mayor de *Campylobacter jejuni* respecto de *coli*. Sin embargo, la vía de esta bacteria no es clara.

A su vez, se evidenció la presencia de CT en los insectos de la cama *Alphitobius diaperinus* sugiriendo la implicancia como posible vector, en la persistencia y diseminación de CT.

A través de los datos recolectados en las encuestas, realizadas a los trabajadores y al veterinario, y a la observación del ambiente de las granjas, se logró la identificación de varios de los factores asociados con la presencia y difusión del patógeno en las granjas.

Los datos generados en este trabajo favorecen al conocimiento de la epidemiología de *Campylobacter* en granjas de pollos de engorde y ponen en notoriedad la importancia de implementar medidas de bioseguridad precisas en granjas, que eviten o reduzcan el riesgo de colonización de los pollos.

Se propone diseñar nuevos estudios, con el objetivo de detectar las fuentes de contaminación de *Campylobacter* termotolerantes entre los ciclos de crianza de los establecimientos de pollos parrilleros.

# **VII- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

-Adrianza, A., Pourfarrok, N., Choi, H., Hwang, M., Lukey, J., Jinadatha, C., & Navarathna, D. H. 2023. *Campylobacter coli* bacteremia associated with diarrhea. IDCases, 31, e01734.

-Agabou, A., Alloui, N. 2010. Importance of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) as a reservoir for pathogenic bacteria in Algerian broiler houses. Vet World, 3(2), 71.

-Agunos, A., Waddell, L., Léger, D., Taboada, E. 2014. A systematic review characterizing on-farm sources of *Campylobacter* spp. for broiler chickens. PLoS One, 9(8).

-Alaboudi, A. R., Malkawi, I. M., Osaili, T. M., Abu-Basha, E. A., Guitian, J. 2020. Prevalence, antibiotic resistance and genotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from chickens in Irbid governorate, Jordan. Int. J. Food Microbiol. 327, 108656.

-Allain, V., Chemaly, M., Laisney, M. J., Rouxel, S., Quesne, S., Le Bouquin, S. 2014. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* colonization in broiler flocks at the end of the rearing period in France. Br. Poult. Sci. 55(4), 452-459.

-Alonso, J. M. 2002. Géneros *Campylobacter* y *Helicobacter* en: Manual de Microbiología Veterinaria. Vadillo, S. y col. Ed. McGraw Hill, Interamericana, D. L. Madrid. Pp: 253-258.

-Alonso-Pérez, C., Alcántara-Salinas, A., Escobar-Rojas, V., Ramírez-Sandoval, M. P., Reyes-Hernández, M. U., Guerrero-Becerra, M., ... & Reyes-Gómez, U. 2021. Gastroenteritis by *Campylobacter* in children. Current concepts. Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora, 36(2), 88-101.

-Althaus, D., Zweifel, C., Stephan, R. 2017. Analysis of a poultry slaughter process: influence of process stages on the microbiological contamination of broiler carcasses. Ital J Food Saf, 6(4).

-Ansari-Lari, M., Hosseinzadeh, S., Shekarforoush, S. S., Abdollahi, M., Berizi, E. 2011. Prevalence and risk factors associated with *Campylobacter* infections in broiler flocks in Shiraz, southern Iran. *Int J Food Microbiol.* 144(3), 475-479.

-Blajman, J. E., Zbrun, M. V., Astesana, D. M., Berisvil, A. P., Fusari, M. L., Soto, L. P., & Frizzo, L. S. 2015. Probiotics in broilers' rearing: A strategy for intensive production models. *Revista Argentina de microbiología*, 47(4), 360-367.

-Blaser, M. J., Smith, P. F., Wang, W. L., & Hoff, J. C. 1986. Inactivation of *Campylobacter jejuni* by chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 51(2), 307-311.

-Boletín de Vigilancia Ministerio de Salud Argentina, 2020

<http://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n506-se30-2020/>

-Bull, S. A., Allen, V. M., Domingue, G., Jørgensen, F., Frost, J. A., Ure, R., Humphrey, T. J. 2006. Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(1), 645-652.

-Cantero Portillo, J. G. 2017. *Campylobacter* spp. en granjas de pollos de engorde: diversidad genética, resistencia antimicrobiana y factores de virulencia.

-Cardinale, E., Tall, F., Gueye, E. F., Cisse, M., & Salvat, G. 2004. Risk factors for *Campylobacter* spp. infection in Senegalese broiler-chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 64(1), 15- 25.

-Cecco, L., González, H., Deluchi, P., Barrios, H., & De Franceschi, M. 2005. Determinación de los estados de desarrollo de *Alphitobius diaperinus* en granjas avícolas. *Rev. arg. prod. anim.* 25(1-2), 93-99.

-Chinivasagam, H. N., Redding, M., Runge, G., & Blackall, P. J. 2010. Presence and incidence of food-borne pathogens in Australian chicken litter. *Br. Poult. Sci.* 51(3), 311-318.

- Choo, L. C., Saleha, A. A., Wai, S. S., Fauziah, N. 2011. Isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from houseflies (*Musca domestica*) in a university campus and a poultry farm in Selangor, Malaysia. *Trop Biomed.* 28(1), 16-20
- Christidis, T., Pintar, K. D. M., Butler, A. J., Nesbitt, A., Thomas, M. K., Marshall, B., & Pollari, F. 2016. *Campylobacter* spp. prevalence and levels in raw milk: a systematic review and meta-analysis. *J. Food Prot.* 79(10), 1775-1783.
- Colles, F. M., McCarthy, N. D., Bliss, C. M., Layton, R., Maiden, M. C. 2015. The long-term dynamics of *Campylobacter* colonizing a free-range broiler breeder flock: an observational study. *Environ. Microbiol.* 17(4), 938-946.
- Cox, N. A., Richardson, L. J., Musgrove, M. T. 2010. *Campylobacter jejuni* and other *Campylobacters*. *Pathog Tox Foods.* 20-30.
- Damjanova, I., Jakab, M., Farkas, T., Meszaros, J., Galántai, Z., Turcsányi, I., Kardos, G. 2011. From farm to fork follow-up of thermotolerant *Campylobacters* throughout the broiler production chain and in human cases in a Hungarian county during a ten-months period. *International Journal of Food Microbiology*, 150(2-3), 95-102.
- Dasti, J. I., Tareen, A. M., Lugert, R., Zautner, A. E., Groß, U. 2010. *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int J Med Microbiol Suppl.* 300(4), 205-211.
- De Medici, D., L. Croci, E. Delibato, S. Di Pasquale, E. Filetici, and L. Toti. 2003. Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* in poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:3456–3461.
- Del Collo, L. P., Karns, J. S., Biswas, D., Lombard, J. E., Haley, B. J., Kristensen, R. C., Van Kessel, J. A. S. 2017. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter* spp. in bulk tank milk and milk filters from US dairies. *J. Dairy Sci.* 100(5), 3470-3479.

- Díaz-López, E. A., Ángel-Isaza, J., & Ángel, D. 2017. Probióticos en la avicultura: una revisión. *Revista de Medicina Veterinaria*, (35), 175-189.
- Dinev, I. 2013. The darkling beetle (*Alphitobius diaperinus*) a health hazard for broiler chicken production. *Trakia J. Sci.* 11(1), 1-4.
- Dogan, O. B., Clarke, J., Mattosc, F., & Wang, B. 2019. A quantitative microbial risk assessment model of *Campylobacter* in broiler chickens: Evaluating processing interventions. *Food Control*, 100, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodc.2019.01.003>.
- Domínguez Carrillo, L. G., Alcocer Maldonado, J. L., Domínguez Gasca, L. G., & Arellano Aguilar, J. G. 2021. Síndrome de Guillain-Barré recurrente asociado con infección por SARS-CoV-2. *Acta médica Grupo Ángeles*, 19(4), 554-557.
- EFSA. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J.* 9(4):2105.
- EFSA y ECDC. 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2009. *EFSA J.* 9:2090.
- EFSA. 2014. EFSA explains zoonotic diseases. *Campylobacter*. 1–2. <https://doi.org/10.2805/59450>.
- EFSA y ECDC. 2016. Informe sobre tendencias y fuentes de zoonosis, año 2016. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/tendencias-fuentes-zoonosis-ecdc-efsa/>
- EFSA 2024. Informe de zoonosis One Health 2023 de la Unión Europea. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>
- El-Shibiny, A., Connerton, P. L., Connerton, I. F. 2007. *Campylobacter* succession in broiler chickens. *Vet. Microbiol.* 125(3-4), 323-332.

- Epps, S. V., Harvey, R. B., Hume, M. E., Phillips, T. D., Anderson, R. C., Nisbet, D. J. 2013. Foodborne *Campylobacter*: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10(12), 6292-6304.
- European Centre for Disease Prevention and Control. 2022. Campylobacteriosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2021. Stockholm: ECDC.
- Facciola, A., Riso, R., Avventuroso, E., Visalli, G., Delia, S. A., Laganà, P. 2017. *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J. Prev Med Hyg.* 58(2), E79.
- FAO, 2004. Agriculture and Economic Development Analysis Division. <https://www.fao.org/documents/card/es?details=3e9b2a36-d988-5dce-9699-3a141a4ec123/>
- Fernández, H. 2011. *Campylobacter* y campylobacteriosis: una mirada desde América del Sur. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 28(1), 121-127.
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., ... & Ore, F. 2021. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298.
- Flórez, D. 2018. Caracterización genómica y resistencia a antimicrobianos de *Campylobacter* (Doctoral dissertation, Disertación doctoral) Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/cittes>).
- Frizzo, L. S., Zbrun, M. V., Soto, L. P., & Signorini, M. L. 2011. Effects of probiotics on growth performance in young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), 147-156.
- Froebel, L. K., Jalukar, S., Lavergne, T. A., Lee, J. T., & Duong, T. 2019. Administration of dietary prebiotics improves growth performance and reduces pathogen colonization in broiler chickens. *Poultry science*, 98(12), 6668-6676.

-Garcés Pérez, J. 2023. Evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias de los establecimientos de venta de carne (carnicerías) de la localidad de Villa Regina, mediante inspecciones bromatológicas (Bachelor's thesis, Universidad Nacional del Comahue. Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos).

<http://rdi.uncoma.edu.ar/handle/uncomaid/17507>

-Geden, C. J., & Hogsette, J. 1994. Research and extension needs for integrated pest management for arthropods of veterinary importance. Proceedings of a Workshop in Lincoln, Nebraska. 56-64. <https://digitalcommons.unl.edu/usdaarsfacpub/1039/>

-Gharbi, M., Béjaoui, A., Ben Hamda, C., Jouini, A., Ghedira, K., Zrelli, C., ... & Maaroufi, A. 2018. Prevalence and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in the North of Tunisia. *BioMed research international*, 2018(1), 7943786.

-Giombelli, A., Gloria, M. B. A. 2014. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* on broiler chickens from farm to slaughter and efficiency of methods to remove visible fecal contamination. *J. Food Prot.* 77(11), 1851-1859.

-Goossens, H., De Boeck, M., Coignau, H., Vlaes, L., Van den Borre, C., Butzler, J. P. 1986. Modified selective medium for isolation of *Campylobacter* spp. from feces: comparison with Preston medium, a blood-free medium, and a filtration system. *J. Clin. Microbiol.* 24(5), 840- 843.

-Gregory, E., Barnhart, H., Dreesen, DW, Stern, Nueva Jersey y Corn, JL 1997. Estudio epidemiológico de *Campylobacter* spp. en pollos de engorde: fuente, momento de colonización y prevalencia. *Avian Dis.* 1997 Oct-Dec;41(4):890-8. PMID: 9454923

-Hald, B., Skov, M. N., Nielsen, E. M., Rahbek, C., Madsen, J. J., Wainø, M., Madsen, M. 2015. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in wild birds on Danish livestock farms. *Acta Vet. Scand.*, 58(1), 11.

- Hansson, I., Engvall, E. O., Vågsholm, I., Nyman, A. 2010. Risk factors associated with the presence of *Campylobacter*-positive broiler flocks in Sweden. *Prev Vet Med*, 96(1-2), 114- 121.
- Hansson, I., Pudas, N., Harbom, B., & Engvall, E. O. 2010. Within-flock variations of *Campylobacter* loads in caeca and on carcasses from broilers. *Int. J. Food Microbiol.* 141(1- 2), 51-55.
- Hansson, I., Sandberg, M., Habib, I., Lowman, R., & Engvall, E. O. 2018. Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 30-48.
- Hazeleger, W. C., Bolder, N. M., Beumer, R. R., & Jacobs-Reitsma, W. F. 2008. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(22), 6887-6891.
- He, Y., Reed, S., Bhunia, A. K., Gehring, A., Nguyen, L. H., Irwin, P. L. 2015. Rapid identification and classification of *Campylobacter* spp. using laser optical scattering technology. *Food Microbiol.* 47, 28-35.
- Heimesaat, M. M., Backert, S., Alter, T., & Bereswill, S. 2023. Molecular Targets in *Campylobacter* Infections. *Biomolecules*, 13(3), 409.h
- Hermans, D., Martel, A., Van Deun, K., Verlinden, M., Van Immerseel, F., Garmyn, A., Pasmans, F. 2010. Intestinal mucus protects *Campylobacter jejuni* in the ceca of colonized broiler chickens against the bactericidal effects of medium-chain fatty acids. *Poult. Sci.* 89(6), 1144-1155.
- Hermans, D., Van Deun, K., Martel, A., Van Immerseel, F., Messens, W., Heyndrickx, M., Pasmans, F. 2011. Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut. *Vet Res*, 42(1), 1-14.

-Hermans, D., Pasmans, F., Messens, W., Martel, A., Van Immerseel, F., Rasschaert, G., Haesebrouck, F. 2012. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 12(2), 89-98.

-Hog, B. B., Sommer, H. M., Larsen, L. S., Sørensen, A. I. V., David, B., Hofshagen, M., & Rosenquist, H. 2016. Farm specific risk factors for *Campylobacter* colonization in Danish and Norwegian broilers. Prev. Vet. Med. 130, 137-145.

-Irisarri., 2013; Manejo y tratamiento en las camas en producción avícola. Ergormix consultado el 21 de enero de 2024 en: [https://www.engormix.com/avicultura/manejo-cama-pollo/manejo-tratamiento-camas-produccion\\_a30517/](https://www.engormix.com/avicultura/manejo-cama-pollo/manejo-tratamiento-camas-produccion_a30517/)

-Jacobs-Reitsma, W. F., Van de Giessen, A. W., Bolder, N. M., & Mulder, R. W. A. W. 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. Epidemiology & Infection, 114(3), 413-421.

-Jokinen, C. C., Koot, J. M., Carrillo, C. D., Gannon, V. P., Jardine, C. M., Mutschall, S. K., Taboada, E. N. 2012. An enhanced technique combining pre-enrichment and passive filtration increases the isolation efficiency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from water and animal fecal samples. J. Microbiol. Meth. 91(3), 506-513.

-Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., Man, S. M. 2015. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. Clin. Microbiol. Rev. 28(3), 687-720.

-Kassem, I. I., Sanad, Y., Gangaiah, D., Lilburn, M., Lejeune, J., & Rajashekara, G. 2010. Use of bioluminescence imaging to monitor *Campylobacter* survival in chicken litter. J. appl. Microbiol. 109(6), 1988-1997.

-Keene W.E. 2006. Lessons from investigation of foodborne disease outbreaks. JAMA, 281, 19:1845-1847.

-Keithlin, J., Sargeant, J., Thomas, M. K., Fazil, A. 2014. Systematic review and metaanalysis of the proportion of *Campylobacter* cases that develop chronic sequelae. BMC Public Health, 14(1), 1-19.

-Keller, J. I., Shriver, W. G., Waldenström, J., Griekspoor, P., & Olsen, B. 2011. Prevalence of *Campylobacter* in wild birds of the mid-Atlantic region, USA. *J. Wildl. Dis.* 47(3), 750- 754.

-Keller, J. I., Shriver, W. G. 2014. Prevalence of three *Campylobacter* species, *C. jejuni*, *C. coli*, and *C. lari*, using multilocus sequence typing in wild birds of the Mid-Atlantic region, USA. *J. Wildl. Dis.* 50(1), 31-41.

-Khanna, M. R., Bhavsar, S. P., & Kapadnis, B. P. 2006. Effect of temperature on growth and chemotactic behaviour of *Campylobacter jejuni*. *Lett. Appl. Microbiol.* 43(1), 84-90.

-Line, J. E., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Perelygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., ... & Stern, N. J. 2008. Isolation and purification of enterocin E-760 with broad antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(3), 1094-1100.

-Linton, D., Owen, R.J. Stanley, J. 1996. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals. *Res. Microbiol.* 147: 707–718.

- Lu, T., Marmion, M., Ferone, M., Wall, P., & Scannell, A. G. M. 2021. On farm interventions to minimise *Campylobacter spp.* contamination in chicken. *British Poultry Science*, 62(1), 53-67.

-MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca) 2020. Boletín Avícola-Anuario 2019.

[https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//000082\\_Nro%208%20Abril%202020%20\(Anuario%202019\).pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//000082_Nro%208%20Abril%202020%20(Anuario%202019).pdf). Último acceso el 21-01-2024.

-MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca) 2022. Anuario Avícola.

[https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/\\_archivos//000001\\_Anuario%20Avicola%202022.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/informes/boletines/_archivos//000001_Anuario%20Avicola%202022.pdf). Último acceso el 10-01-2024.

-Martínez López, 2023; El escarabajo *Alphitobius diaperinus* un enemigo en las granjas avícolas. Avicultura.mx consultado el 19 de enero de 2024 en: <https://www.avicultura.mx/destacado/el-escarabajo-alphitobius-diaperinus-un-enemigo-en-las-granjas-avicolas>.

-McDowell, S. W. J., Menzies, F. D., McBride, S. H., Oza, A. N., McKenna, J. P., Gordon, A. W., Neill, S. D. 2008. *Campylobacter* spp. in conventional broiler flocks in Northern Ireland: epidemiology and risk factors. *Prev Vet Med*, 84(3-4), 261-276.

-Meerburg B., Schoelitsz B. 2018. Biosecurity: methods to reduce contact risks between vectors and livestock. In: Garros C, JBouyer J, Takken W and Smallegange R (eds.). *Pests and vector borne diseases in the livestock industry*. Wageningen Academic Publishers, Netherlands. pp. 453–464.

-Miranda, M. V. O., Weiler, N., Alvarez, M., Ortiz, F., Martinez, J., Duarte, R., ... & Acosta, A. 2023. Perfil de virulencia y resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter spp.*, aislados de pacientes con síndrome diarreico agudo en el Laboratorio Central de Salud Pública, periodo 2020-2021: Characterization of virulence factors and antimicrobial resistance in *Campylobacter spp.* strains, isolated from patients with acute diarrheal syndrome at the Central Laboratory of Public Health, period 2020-2021. *Revista de salud pública del Paraguay*, 13(2), 22-28.

-Morishita, T. Y., Aye, P. P., Harr, B. S., Cobb, C. W., & Clifford, J. R. 1997. Evaluation of an Avian-Specific Probiotic to Reduce the Colonization and Shedding of *Campylobacter jejuni* in Broilers. *Avian Diseases*, 41(4), 850–855. <https://doi.org/10.2307/1592338> . Accessed 21 Mar. 2025.

-Natsos, G., Mouttotou, N. K., Ahmad, S., Kamran, Z., Ioannidis, A., Koutoulis, K. C. 2019. The genus *Campylobacter*: detection and isolation methods, species identification typing techniques. *J Hellenic Vet Med Soc*, 70(1), 1327-1338.

-Newell, D. G., Elvers, K. T., Dopfer, D., Hansson, I., Jones, P., James, S., Pearson, D. 2011. Biosecurity-based interventions and strategies to reduce *Campylobacter spp.* on poultry farms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(24), 8605-8614.

-O'Brien, S. J. 2017. The consequences of *Campylobacter* infection. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 33(1), 14-20.

-On, S. L. 1996. Identification methods for *Campylobacters*, *Helicobacters*, and related organisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 9(3), 405-422.

-Pedersen, SK, Wagenaar, JA, Vigre, H., Roer, L., Mikoleit, M., A Aidara-Kane, A, Hendriksen, RS, 2018. Proficiency of WHO Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System Participants in Identification and Susceptibility Testing of Thermotolerant *Campylobacter spp.* from 2003 to 2012.

-Pielsticker, C., Glünder, G., Rautenschlein, S. 2012. Colonization properties of *Campylobacter jejuni* in chickens. *Eur. J. Microbiol. Immunol.* 2(1), 61-65.

-Pintar, K. D., Thomas, K. M., Christidis, T., Otten, A., Nesbitt, A., Marshall, B., Ravel, A. 2017. A comparative exposure assessment of *Campylobacter* in Ontario, Canada. *Risk Anal.* 37(4), 677-715.

-Pokamunski, S., Kass, N., Borochoovich, E., Marantz, B., & Rogol, M. 1986. Incidence of *Campylobacter spp.* in broiler flocks monitored from hatching to slaughter. *Avian Pathology*, 15(1), 83-92.

-Quiróz, E., Soleto, A., & Terrazas, R. 2011. Seguimiento a la crianza comercial de pollos parrilleros en la empresa Avícola Sofía. línea). Consultado, 24. [http://190.181.56.11/sistemabibliotecario/doc\\_trabajodirigidos/QUIROZ%20PATRICIA\\_arreglado\\_-20110513-154043.pdf](http://190.181.56.11/sistemabibliotecario/doc_trabajodirigidos/QUIROZ%20PATRICIA_arreglado_-20110513-154043.pdf)

-Ramabu, S. S., Boxall, N. S., Madie, P., Fenwick, S. G. 2004. Some potential sources for transmission of *Campylobacter jejuni* to broiler chickens. *Lett. Appl. Microbiol.* 39(3), 252-256.

-Rauber Würfel, S. D. F., Voss-Rech, D., dos Santos Pozza, J., Coldebella, A., Santiago Silva, V., Vaz, C. S. L. 2019. Population Dynamics of Thermotolerant *Campylobacter* in Broilers Reared on Reused Litter. *Foodborne Pathog. Dis.* 16(11), 738-743.

-Ricke, S. C., Feye, K. M., Chaney, W. E., Shi, Z., Pavlidis, H., & Yang, Y. 2019. Developments in rapid detection methods for the detection of foodborne *Campylobacter* in the United States. *Front. Microbiol.* 9, 3280.

-Robyn, J., Rasschaert, G., Pasmans, F., Heyndrickx, M. Thermotolerant *Campylobacter* during broiler rearing: risk factors and intervention. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14(2), 81-105.

-Rodríguez Gutiérrez, V., Guzmán Osorio, L., Verjan García, N. 2015. *Campylobacter* spp. in poultry products and its impact in public health. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 10(2), 203-213.

-Rossler E.; Romero-Scharpen, A.; Berisvil, A.P.; Sirini, N.E.; Saluzzo, M.; Zimmermann, J.A.; Olivero, C.R.; Antoniazzi, L.; Frizzo, L.S.; Zbrun, M.V.; Signorini, M.L. 2018. Influencia de vectores y fómites en la transmisión de *Campylobacter* termotolerante en crianzas sucesivas de pollos parrilleros en granjas avícolas. VI Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión. Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional del Litoral. Esperanza - Argentina.  
[https://www.fcv.unl.edu.ar/investigacion/wpcontent/uploads/sites/7/2018/11/SP\\_ROSSLER\\_INFLUENCIA.pdf](https://www.fcv.unl.edu.ar/investigacion/wpcontent/uploads/sites/7/2018/11/SP_ROSSLER_INFLUENCIA.pdf)

-Rossler, E., Signorini, M. L., Romero-Scharpen, A., Soto, L. P., Berisvil, A., Zimmermann, J. A., Fusari, M. L., Olivero, C.R., Zbrun, M. V., Frizzo, L. S. 2019. Meta-analysis of the prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in food-producing animals worldwide. *Zoonoses and Public Health*, 66(4), 359-369.

-Rossler, E. 2023. Evaluación de la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en granjas de engorde de pollos parrilleros y plantas faenadoras como base para sustentar científicamente medidas de gestión del riesgo en salud pública (Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Litoral). <https://hdl.handle.net/11185/7124>

- Rouger, A., Tresse, O., Zagorec, M. 2017. Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. *Microorganisms*, 5(3), 50.
- Royden, A., Wedley, A., Merga, J. Y., Rushton, S., Hald, B., Humphrey, T., Williams, N. J. 2016. ¿A role for flies (Diptera) in the transmission of *Campylobacter* to broilers? *Epidemiol. Infect.* 144(15), 3326-3334.
- Sahin, O., Kassem, I. I., Shen, Z., Lin, J., Rajashekara, G., Zhang, Q. 2015. *Campylobacter* in poultry: ecology and potential interventions. *Avian Diseases*, 59(2), 185-200.
- Saleha, A. A. 2004. Epidemiological study on the colonization of chickens with *Campylobacter* in broiler farms in Malaysia: possible risk and management factors. *Int. J. Poult. Sci*, 3(2), 129-134.
- Salin, C.; Delettre, Y.; Vernon, P. 2003. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: Field trials with combined insecticide treatment: Insect growth regulator and pyrethroid. *J. Econom. Entomol.* 96: 126-30.
- Salim, S. M., Mandal, J., Parija, S. C. 2014. Isolation of *Campylobacter* from human stool samples. *Indian journal of medical microbiology*, 32(1), 35
- Schreyer, M. E., Olivero, C. R., Rossler, E., Soto, L. P., Frizzo, L. S., Zimmermann, J. A., Signorini, M. L., & Virginia, Z. M. 2022. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* identified in a slaughterhouse in Argentina. *Current research in food science*, 5, 590–597. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.005>
- Semaan, E. H., Dib, H., Mrad, R., Chami, C., & Jalkh, R. (2014). Dynamic of *Campylobacter* species contamination along a poultry slaughtering chain. *Italian Journal of Food Safety*, 3(3), 2246.

-Sibanda, N., McKenna, A., Richmond, A., Ricke, S. C., Callaway, T., Stratakos, A. C., Corcionivoschi, N. 2018. A review of the effect of management practices on *Campylobacter* prevalence in poultry farms. *Front. Microbiol.* 9, 2002.

-Signorini, M.L.; Zbrun, M.V.; Soto, L.P.; Sequeira, G.J.; Rosmini, M.R.; Rossler, E.; Blajman, J.E.; Astesana, D.M.; Berisvil, A.P.; Romero Scharpen, A.; Zimmermann, J.A.; Camussone, C.; Frizzo, L.S. Evaluación de la presencia y difusión de *Campylobacter* termotolerantes en granjas de engorde de pollos parrilleros como base para sustentar científicamente medidas de gestión del riesgo. *Revista SNS*; Lugar: Buenos Aires; Año: 2015 vol. 1 p. 64 - 70

-Signorini, M.L.; Rossler, E.; Diaz, D.C.; Olivero, C.R.; Romero-Scharpen, A.; Soto, L.P.; Astesana, D.M.; Berisvil, A.P.; Zimmermann, J.A.; Fusari, M.L.; Frizzo, L.S.; Zbrun, M.V. 2018. Antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* species isolated from humans, food-producing animals, and products of animal origin: a worldwide meta-analysis. *Microb. Drug Resist.* 24(8), 1174-1190.

-Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., Teixeira, P. 2011. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front. Microbiol.* 2, 200.

-Silva, V. S. 2013. Técnicas de fermentación de camas, aspectos sanitarios. Memorias X Seminario de Actualización avícola de AMEVEA Entre Ríos, Colón, Entre Ríos, Argentina. <https://core.ac.uk/reader/45518210>

-Skarp, C. P. A., Hänninen, M. L., Rautelin, H. I. K. 2016. *Campylobacteriosis*: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 103-109.

-Sociedad Argentina de Pediatría 2019. Informe. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Subcomisión de Epidemiología. Recuperado el 15 de noviembre de 2023 de: [https://www.sap.org.ar/uploads/archivos/general/files\\_etas-09-19\\_1567801555.pdf](https://www.sap.org.ar/uploads/archivos/general/files_etas-09-19_1567801555.pdf)

-Stern, N. J., Fedorka-Cray, P., Bailey, J. S., Cox, N. A., Craven, S. E., Hiatt, K. L., Mead, G. C. 2001. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected US poultry production and processing operations. *J. Food Prot.* 64(11), 1705-1710.

- Tamborini, A. L., Casabona, L. M., Viñas, M. R., Asato, V., Hoffer, A., Farace, M. I., ... & Pichel, M. 2012. *Campylobacter* spp.: prevalencia y caracterización fenotípica de aislamientos de pacientes con diarrea y de sus mascotas en la provincia de La Pampa, Argentina. *Revista argentina de microbiología*, 44(4), 266-271.
- Teh, R., Lee, D., Tee, Y. C., & Menon, T. 2023. Bowel Ischemia Secondary to *Campylobacter* Enterocolitis: A Case Series and Review of the Literature. *Cureus*, 15(5).
- Terzolo, H. R.; Lawson, G. H. K.; Angus, K. W. y D. R. Snodgrass 1987, "Enteric *Campylobacter* infection in gnotobiotic calves and lambs", *Res Vet Sci*; 43, pp. 72-77.
- Thakur, S., Brake, J., Keelara, S., Zou, M., Susick, E. 2013. Farm and environmental distribution of *Campylobacter* and *Salmonella* in broiler flocks. *Res Vet Sci*, 94(1), 33-42.
- Torrallbo, A., Borge, C., Allepuz, A., García-Bocanegra, I., Sheppard, S. K., Perea, A., Carbonero, A. 2014. Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. *Prev Vet Med*, 114(2), 106-113.
- Tsola, E., Drosinos, E. H., Zoiopoulos, P. 2008. Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. *Food Control*, 19(4), 423-431.
- Ugarte-Ruiz, M., Gómez-Barrero, S., Porrero, M. C., Alvarez, J., Garcia, M., Comeron, M. C., Dominguez, L. 2012. Evaluation of four protocols for the detection and isolation of thermophilic *Campylobacter* from different matrices. *J. Appl. Microbiol.* 113(1), 200-208.
- Umaraw, P., Prajapati, A., Verma, A. K., Pathak, V., Singh, V. P. 2017. Control of *Campylobacter* in poultry industry from farm to poultry processing unit: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 57(4), 659-665.
- Urdaneta Vargas, S. H. 2016. Epidemiología de *Campylobacter*

spp. en granjas de pollos de engorde: Prevalencia, factores de riesgo y dinámica de infección. <https://ddd.uab.cat/record/175837> [Consulta: 27 julio- 2025].

-Vandamme, P., van Doorn, L.-J., Rashid, S.T.A., Quint, W.G.V., Plas Jvd; Chan, V.L., On, S.L.W. 1997. *Campylobacter* hyoilei Alderton y col. 1995 and *Campylobacter coli* Veron and Chatelain 1973 are subjective synonyms. Int. J. Sys. Bacteriol., 47: 1055-1060.

-Vandamme P, Dwhirst FE, Paster BJ. Campylobacteraceae. In: Garrity GM, editor. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York: Springer; 2005. pp. 1145–1168.

-Vandeplass, S., Dubois Dauphin, R., Palm, R., Beckers, Y., Thonart, P., & Théwis, A. 2010. Prevalence and sources of *Campylobacter* spp. contamination in free-range broiler production in the southern part of Belgium. Biotechnol. agron. soc. environ. 14(2), 279-288.

-Vencia, W., Nogarol, C., Bianchi, D. M., Gallina, S., Zuccon, F., Adriano, D., Decastelli, L. 2014. Validation according to ISO 16140: 2003 of a commercial real-time PCR-based method for detecting *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, and *C. lari* in foods. Int. J. Food Microbiol. 177, 78-80.

-Vidal, A. B., Rodgers, J., Arnold, M., & Clifton-Hadley, F. 2013. Comparison of different sampling strategies and laboratory methods for the detection of *C. jejuni* and *C. coli* from broiler flocks at primary production. Zoonoses and public health, 60(6), 412-425.

-Vidal, A. B., Colles, F. M., Rodgers, J. D., McCarthy, N. D., Davies, R. H., Maiden, M. C. J., Clifton-Hadley, F. A. 2016. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from conventional broiler flocks and the impacts of sampling strategy and laboratory method. Appl. Environ. Microbiol. 82(8), 2347-2355.

-Wagenaar, J. A., French, N. P., Havelaar, A. H. 2013. Preventing *Campylobacter* at the source: ¿why is it so difficult? Clinical infectious diseases, 57(11), 1600-1606.

-Wassenaar, T. M. 2011. Following an imaginary *Campylobacter* population from farm to fork and beyond: a bacterial perspective. *Letters in applied microbiology*, 53(3), 253-263.

-World Health Organization (WHO). 2013. The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012.

-World Health Organization (WHO). 2015. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>. Último acceso 04-02-2025.

-Williams, L. K., Sait, L. C., Cogan, T. A., Jørgensen, F., Grogono-Thomas, R., Humphrey, T. J. 2012. Enrichment culture can bias the isolation of *Campylobacter* subtypes. *Epidemiol. Infect.* 140(7), 1227-1235.

-Zbrun, M. V., Romero-Scharpen, A., Olivero, C., Rossler, E., Soto, L. P., Rosmini, M. R., ... Frizzo, L. S. 2013. Occurrence of thermotolerant *Campylobacter* spp. at different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *New Zealand veterinary journal*, 61(6), 337-343.

-Zbrun, M. V., Rossler, E., Olivero, C. R., Soto, L. P., Zimmermann, J. A., Frizzo, L. S., Signorini, M. L. 2021. Possible reservoirs of thermotolerant *Campylobacter* at the farm between rearing periods and after the use of enrofloxacin as a therapeutic treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 340, 109046.

-Zbrun, M. V., Olivero, C. R., Soto, L. P., Lencina, F., Frizzo, L. S., Zimmermann, J. A., & Signorini, M. L. 2022. Impact of farm-level strategies against thermotolerant *Campylobacter* in broiler chickens, using a quantitative risk assessment model and meta-analysis. *Zoonoses and Public Health*, 69(5), 408-424.

-Zhang, S., Shi, J., Sharma, E., Li, X., Gao, S., Zhou, X., ... & Jiang, G. 2023. In-sewer decay and partitioning of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and implications for their wastewater surveillance. *Water Research*, 233, 119737.

# VIII- ANEXOS

## **Anexo 1**

### **Encuestas Granja de Pollos Parrilleros.**

Provincia de Santa Fe- Argentina

Para poder entender el funcionamiento y poder crear medidas de manejo tendientes a disminuir la presencia de *Campylobacter* en las granjas diseñamos encuestas dirigidas a los granjeros y médico veterinario encargados de las granjas.

#### **Dirigida al personal que trabaja en la granja.**

- 1)- ¿Cuántos galpones tiene la granja?
- 2)- ¿Qué cantidad de aves ingresan por crianza?
- 3)- ¿A los cuántos días ingresan los pollitos a la granja?
  - Día 1
  - Día 2
  - Día 4
- 4)- ¿En qué estado se encuentra la cerca perimetral de la granja?
  - Muy bueno
  - Bueno
  - Malo
- 5)- Estado de los galpones de crianza en general.
  - Muy bueno
  - Bueno
  - Malo
- 6)- ¿El acceso al galpón está en buenas condiciones?
  - Si
  - No
- 7)- ¿De qué material es el piso de los galpones?
  - Tierra
  - Cemento

- Ambos

8)- ¿Al ingreso de los galpones hay lavabotas?

-Si

-No

9)- ¿Cuál es el estado de la puerta de ingreso al galpón?

-Muy bueno

-Bueno

-Regular

10)- ¿Qué tipo de puerta tiene?

11)- ¿Cuál es el estado del techo?

-Muy bueno

-Bueno

-Regular

12)- ¿Se cuenta con un plan de vacunación en la granja?

-Si

-No

13)- ¿Los empleados reciben capacitación?

-Si

-No

14)- ¿Se realiza control de plagas y roedores en la granja?

-Si

-No

-Otros: \_\_\_\_\_

15)- ¿Con qué materiales está hecha la cama?

-Viruta de madera

-Cáscara de arroz

-Paja de trigo picada

16)- ¿La cama se cambia?

-Si

-No

17)- ¿Cada cuánto tiempo?

- 15 días

- 1 mes

-No se cambia

-Otra: \_\_\_\_\_

18)- ¿Hacen algún tratamiento contra los cascarudos?

-Si

-No

19)- ¿Cuándo y con qué?

20)- ¿Los bebederos son de tipo?

21)- ¿Cada cuánto se lavan los bebederos?

-Cada 3 días

-Una vez por semana

-Cada 2 semanas

-Recambio de crianza

-No se lavan

22)- ¿Los comederos son de tipo?

-Manuales

-Automáticos

-Ambos

23)- ¿Cada cuánto se lavan los comederos?

-Cada 3 días

-Una vez por semana

-Cada 2 semanas

-Recambio de crianza

-No se lavan

24)- Mortalidad

-5%

-10%

-Otro:

25)- ¿Qué se hace con los pollos que mueren?

26)- ¿A las cuantas semanas de edad sale el lote al frigorífico?

-Semana 5

-Semana 6

-Semana 7

27)- ¿Qué función cumple el papel que se coloca en la cama al principio de la crianza?

28)- ¿Cuánto tiempo permanece el papel en la cama?

-3 días

-5 días

-7 días

28)- ¿Qué tipo de agua utilizan para que beban las aves?

-De red

-De pozo

29)- ¿El agua recibe algún tipo de tratamiento? ¿Con qué?

- Sí, con Cloro.

30)- ¿En la granja hay mascotas? ¿Qué especies y cuántos?

31)- ¿Se observan aves (pájaros) dentro de los galpones de crianza?

-Si

-No

### **Dirigida al personal veterinario.**

- 1)- ¿Se realiza control de plagas y roedores en la granja? ¿Con qué?
  - Si
  - No
  - Otros: \_\_\_\_\_
- 2)- ¿Cómo controlan a los cascarudos? ¿Qué productos usan?
- 3)- ¿Qué plan sanitario reciben las aves dentro de la granja?
- 4)- ¿Qué plan sanitario reciben las aves antes del ingreso a la granja?
- 5)- ¿Tasa de Mortalidad?
- 6)- ¿Los encargados de la granja realizan capacitaciones?
  - Si
  - No
- 7)- ¿El veterinario recibe capacitación? ¿Cada cuánto tiempo?
  - Si
  - No
- 8)- ¿Qué hacen con la cama una vez terminada la crianza?
- 9)- ¿El alimento balanceado lleva incorporado algún promotor de crecimiento?
  - Si
  - No
- 10)- ¿En cuántas etapas se divide la alimentación?
- 11)- ¿Realizan tratamientos metafilácticos o profilácticos en las granjas?  
¿Generalmente sobre que enfermedades? ¿Qué tipo de tratamiento?
- 12)- ¿Se lavan los bebederos y comederos?

13)- ¿Cuántos kilos de alimento balanceado consume un pollo en el periodo que está en la granja de engorde?

14)- ¿Con cuántos kilos se va el pollo a frigorífico?

## Anexo 2

### Tabla comparativa entre las dos granjas.

Dirigida al personal que trabaja en la granja.	Granja 1	Granja 2
1)- ¿Cuántos galpones tiene la granja?	3	4
2)- ¿Qué cantidad de aves ingresan por crianza?	6000	6000
3)- ¿A los cuantos días ingresan los pollitos a la granja?		
- Día 1	x	x
- Día 2		
- Día 4		
4)- ¿En qué estado se encuentra la cerca perimetral de la granja?		
- Muy bueno		x
- Bueno	x	
-Malo		
5)- Estado de los galpones de crianza en general.		
- Muy bueno		x
- Bueno	x	
-Malo		
6)- ¿El acceso al galpón está en buenas condiciones?		
-Si		x
-No	x	
7)- De que material son los pisos de los galpones		
- Tierra	x	x
- Cemento		
- Ambos		
8)- ¿Al ingreso de los galpones hay lavabotas?		
-Si		
-No	x	x
9)- ¿Qué tipo de puerta tiene?		
-Madera		
-Chapa		x
-No tiene	x	
10)- ¿Cuál es el estado de la puerta de ingreso al galpón?		

-Muy bueno		
-Bueno		x
-Regular		
11)- ¿Cuál es el estado del techo?		
-Muy bueno		x
-Bueno	x	
-Regular		
12)- ¿Se cuenta con un plan de vacunación en la granja?		
-Si	x	x
-No		
13)- ¿Los empleados reciben capacitación?		
-Si		
-No	x	x
14)- ¿Se realiza control de plagas y roedores en la granja?		
-Si		x
-No		
-Otros: _____	cuando se ven	
15)- ¿Con qué materiales está hecha la cama?		
-Viruta de madera		
-Cáscara de arroz	x	x
-Paja de trigo picada		
16)- ¿La cama se cambia?		
-Si	x	x
-No		
17)- ¿Cada cuánto tiempo?		
- 15 días		
- 1 mes		
-No se cambia		
-Otra: _____	Cada 3 crianzas	Cada 3 crianzas
18)- ¿Hacen algún tratamiento contra los cascarudos?		
-Si	x	x
-No		
19)- ¿Cuándo y con qué?	no responde	humo
20)- ¿Los bebederos son de tipo?		
	chupete	chupete
21)- ¿Cada cuánto se lavan los bebederos?		
-Cada 3 días		
-Una vez por semana		
-Cada 2 semanas		
-Recambio de crianza		x
-No se lavan	x	
22)- ¿Los comederos son de tipo?		

-Manuales		
-Automáticos		
-Ambos	x	x
23)- ¿Cada cuánto se lavan los comederos?		
-Cada 3 días		
-Una vez por semana		
-Cada 2 semanas		
-Recambio de crianza		x
-No se lavan	x	
24)- Mortalidad		
-5%	x	x
-10%		
-Otro:		
25)- ¿Qué se hace con los pollos que mueren?	Fosa	Fosa
26)- ¿A las cuantas semanas de edad sale el lote al frigorífico?		
-Semana 5		
-Semana 6		
-Semana 7	x	x
27)- ¿Qué función cumple el papel que se coloca en la cama al principio de la crianza?		
28)- ¿Cuánto tiempo permanece el papel en la cama?		
-3 días		
-5 días		
-7 días	x	x
28)- ¿Qué tipo de agua utilizan para que beban las aves?		
-De red		
-De pozo	x	x
29)- ¿El agua recibe algún tipo de tratamiento?		
-Si	x	x
-No		
- ¿Con qué?	Cloro	Cloro
30)- ¿En la granja hay mascotas?	si	no
- ¿Qué especies y cuantos?	Perros-3	
	Loro-1	
	Gatos-4	
31)- ¿Se observan aves (pájaros) dentro de los galpones de crianza?		
-Si	x	
-No		x
<b>Dirigida al veterinario.</b>	Granja 1	Granja 2

1)- ¿Se realiza control de plagas y roedores en la granja?		
-Si	x	x
-No		
-Otros: _____		
- ¿Con qué?	Cebos o trigos	Cebos o trigos
2)- ¿Controlan a los cascarudos de la cama?		
-Si	x	x
-No		
- ¿Qué productos usan?	Cipermetrina en polvo	Cipermetrina en polvo
3)- ¿Qué plan sanitario reciben las aves dentro de la granja?		
4)- ¿Qué plan sanitario reciben las aves antes del ingreso a la granja?	Lo reciben día 1 de vida en la planta de incubación	
5)- ¿Tasa de Mortalidad?	5%	5%
6)- ¿Los encargados de la granja realizan capacitaciones?		
-Si		
- No	x	x
7)- ¿El veterinario recibe capacitación?	x	x
-Si		
-No		
- ¿Cada cuánto tiempo?	Siempre	Siempre
8)- ¿Qué hacen con la cama una vez terminada la crianza?	Fertilización de campos	Fertilización de campos
9)- ¿El alimento balanceado lleva incorporado algún promotor de crecimiento?		
-Si	x	x
-No		
10)- ¿En cuántas etapas se divide la alimentación?		
	Preinicio	Preinicio
	Inicio	Inicio
	Terminación	Terminación
	Retiro	Retiro
11)- ¿Realizan tratamientos metafilácticos o profilácticos en las granjas?		
-Metafilácticos	x	x
- Profilácticos		
¿Generalmente sobre que enfermedades?		
	<i>E. Coli</i>	<i>E. Coli</i>
- ¿Cómo realizan el tratamiento?		
	curativo sobre todo el galpón	
- Generalmente que ATB usan	enrofloxacina	

12)- ¿Se lavan los bebederos y comederos?		
-Si	x	x
-No		
- ¿Cómo?	con agua a presión	agua a presión
- ¿Utilizan algún producto?	Amonio cuaternario	Amonio cuaternario
-Si	x	x
-No		
- ¿Cuál?		
13)- ¿Cuántos kilos de alimento balanceado consume un pollo en el periodo que está en la granja de engorde?	5,5 a 6 kilos	5,5 a 6 kilos
14)- ¿Con cuántos kilos se va el pollo a frigorífico?	3kg aprox	3kg aprox