

COMUNICACIÓN CORTA

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *Campylobacter* EN LA CADENA AVÍCOLA DESTINADA PARA CONSUMO HUMANO EN COSTA RICA¹

Leana Zumbado-Gutiérrez², Alejandra Arévalo-Madrigal³, María del Pilar Donado-Godoy³,
Juan José Romero-Zúñiga⁴

RESUMEN

Diagnóstico molecular de *Campylobacter* en la cadena avícola destinada para consumo humano en Costa Rica. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia y la frecuencia de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, en la cadena de producción avícola en Costa Rica. Se evaluaron granjas, planta de proceso y puntos de venta del Gran Área Metropolitana. Para la detección y aislamiento de *Campylobacter* sp. se analizaron 84 muestras provenientes de la cadena avícola (24 muestras de carne de pollo tomadas en punto de venta, 20 enjuagues de carcasa y 40 de ciegos tomados en planta de beneficio), obtenidas en noviembre de 2012, siguiendo el protocolo ISO 10272-1:2006 modificado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). De las 84 muestras analizadas, 36 (42,8%) resultaron positivas para *C. jejuni*, y una (1,2%) para *C. coli*. La cantidad de muestras positivas según la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), por tipo de muestra fue: para contenido cecal, 16 (n=40), para carcasas, 8 (n=20) y para punto de venta 12 (n=24). Dieciséis de las veinte granjas muestreadas fueron positivas. Hubo una alta frecuencia de *Campylobacter* en todos los puntos de la cadena muestreados, lo que podría estar asociado a modificaciones de parámetros relacionados con inocuidad en cada eslabón. El enfriamiento rápido y el uso de cloro en el agua en la planta de proceso, disminuyó la frecuencia de muestras positivas de *Campylobacter* spp.

Palabras clave: avicultura, inocuidad de los alimentos, bacterias patógenas, carne de pollo.

ABSTRACT

Molecular diagnosis of *Campylobacter* in poultry chain intended for human consumption in Costa Rica. The aim of this study was to determine the presence and frequency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in three levels of the poultry chain production in Costa Rica. The levels studied were farms, slaughterhouse/processing plant, and retails of the Great Metropolitan Area of Costa Rica. For detection and isolation of *Campylobacter* sp., 84 samples from the poultry chain (24 chicken meat samples at retail, 20 carcass rinses and 40 caecum contents taken at slaughterhouse), obtained in November 2012, following the ISO 10272-1:2006 protocol, USDA modified (United States Department of Agriculture). From the 84 samples analyzed, 36 (42.8%) were positive for *C. jejuni*, and one (1.2%) for *C. coli*. The quantity of positive samples per sample type, according to Polymerase Chain Reaction (PCR), was: for caecal content, 16 (n=40), for carcass, 8 (n=20) and retail, 12 (n=24). Sixteen of the twenty farms sampled were positive. A high frequency of *Campylobacter* spp. at all sample points of the production chain was determined, which could be associated with modification of parameters related to food safety in each link. Rapid cooling measures and the use of chlorine in the cooling water at the process plant collaborate to decrease the frequency of *Campylobacter* positive samples.

Keywords: poultry farming, food safety, pathogenic bacteria, chicken meat.

¹ Recibido: 12 febrero, 2014. Aceptado: 30 de junio, 2014. Trabajo realizado por el Departamento Inspección e Higiene de Alimentos de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (UNA) y la Unidad de Inocuidad y Calidad, CBB-CORPOICA.

² Inspección e Higiene de Alimentos, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Apdo. postal: 304-3000 Heredia. Teléfono: (506) 25624565. leana.zumbado.gutierrez@una.cr (Autor para correspondencia).

³ Unidad de Inocuidad y Calidad, CBB-CORPOICA, Bogotá, Colombia. A.A 240142 Las Palmas. Teléfono: (571) 4227328. aarevalo@corpoica.org.co, pidonado@corpoica.org.co

⁴ Cátedra de Salud de Hato y Control de la Producción, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. Apdo. postal: 304-3000 Heredia. Teléfono: (506) 25624565. juan.romero.zuniga@una.cr



INTRODUCCIÓN

Campylobacter spp. es uno de los principales agentes bacterianos causantes de diarrea en humanos en países desarrollados como Estados Unidos y de la Unión Europea (CDC, 2010; Nakari et al., 2011); además, ha sido una de las bacterias más aisladas en heces de niños con diarrea en países en desarrollo (Coker et al., 2002). La mayoría de episodios diarreicos en humanos son ocasionados por *Campylobacter jejuni*, aunque también se han reportado brotes por *C. coli* y *C. laridis* (Antillón et al., 1987).

La mayor parte de las personas infectadas con *Campylobacter* spp. se recuperan sin ningún tratamiento médico, excepto en casos severos y en pacientes inmunocomprometidos, en donde se hace necesaria la aplicación de antimicrobianos (Nachamkin et al., 2000). De la misma forma, la campilobacteriosis puede producir un desorden neurológico post-infección conocido como el Síndrome de Guillain-Barré (Leonard et al., 2004), se estima que se puede presentar hasta en 40% de los pacientes afectados por esta bacteria (CDC, 2010).

Campylobacter es un bacilo Gram negativo, termotolerante y microaerófilo, que puede ser transmitido a los humanos por medio de agua o alimentos contaminados y, en menor grado, por contacto directo con animales (Figueroa et al., 2009; CDC, 2010). La presencia de este agente patógeno ha sido asociado a la carne de aves, canales de cerdo y de res (Mattheus et al., 2012); no obstante, es en carne de pollo donde se han desarrollado el mayor número de investigaciones (Antillón et al., 1987; Berrang y Dickens, 2000; Figueroa et al., 2009).

En el 2010, la ocurrencia de esta bacteria en carcasas de pollo en plantas de proceso en Costa Rica fue de 1,75% (Cid, 2010); otros estudios reportan prevalencias desde 38,2%, 54,0%, 61,5%, 72,7%, en Canadá, Chile, Jordania y Etiopía, respectivamente (Lammerding et al., 1988; Figueroa et al., 2009; Ewnetu y Mihret, 2010; Osaili et al., 2012). Por otra parte, en punto de venta de pollo fresco, se ha reportado un 63,0% en Costa Rica (Antillón et al., 1987), 58,3% en México (Zaidi et al., 2012), 49,5% en España (Domínguez et al., 2002) y 36,5% en Irán (Taremi et al., 2006).

Tradicionalmente, el diagnóstico y confirmación de las especies de *Campylobacter* se ha realizado

mediante cultivo bacteriológico y pruebas bioquímicas (Ewnetu y Mihret, 2010; Tadesse et al., 2011; Zaidi et al., 2012); sin embargo, en los últimos años, se han implementado técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Osaili et al., 2012) y técnicas de genotipificación (Frederick y Huda, 2011, Ahmed et al., 2012; Abley et al., 2012; Eberle y Kiess, 2012).

En Costa Rica, se han realizado varios estudios de prevalencias en granjas, plantas o puntos de ventas por separado y de forma asincrónica, utilizando diferentes metodologías de cultivo y aislamiento (Cid, 2010; Pacheco y Peña, 1995; Rojas et al., 1996; Castrillo, 2011); por esta razón, se diseñó un estudio simultáneo en las diferentes etapas del proceso productivo.

Tomando en cuenta que *Campylobacter* spp. es uno de los principales patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) a nivel mundial frecuentemente asociado a la cadena avícola (Mattheus et al., 2012; Zaidi et al., 2012), y, aunado a que el consumo per cápita de pollo en Costa Rica es de 23,4 kg por persona por año (Wright, 2010; elsitioavicola, 2011), por encima de los países centroamericanos y de Colombia (elsitioavicola, 2011), se hace imprescindible conocer la situación de este agente patógeno en la cadena productiva de pollo para consumo humano en Costa Rica.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar presencia y la frecuencia de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en la cadena de producción avícola en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se realizó un estudio observacional transversal en el mes de noviembre de 2012 en tres niveles de la cadena productiva avícola de Costa Rica, granja, planta de beneficio y punto de venta. La planta de proceso donde se realizó la recolección de las muestras de ciego y enjuague de carcasa, es altamente tecnificada, en ella se procesa un promedio de 80 000 aves por día.

Las muestras de ciegos reflejan el estado de la granja, estas fueron tomadas en la planta de cosecha, inmediatamente después de la evisceración automática. La velocidad de la línea de proceso es

alta, y para aumentar las posibilidades de seleccionar aves de cada granja durante el proceso de inspección post-mortem, se decidió seleccionar aleatoriamente entre ocho y diez aves provenientes de veinte granjas diferentes. Estas fueron identificadas en el andén durante la inspección ante-mortem, y seguidas a través del sacrificio, la acción de identificar más aves de las muestreadas, aumentó la probabilidad de encontrarlas posteriormente a través del proceso. Durante el proceso de evisceración, las aves no reciben ningún tratamiento para reducir la carga microbiológica de las mismas.

Se recolectó el ciego de dos de las aves seleccionadas por cada granja solamente, sumando un total de cuarenta ciegos. Asimismo, veinte carcasas marcadas (una de cada granja) fueron muestreadas, mediante enjuague, a la salida del sistema de enfriamiento (*chiller*). La temperatura interna fue establecida para cada carcasa muestreada.

Se realizó el análisis de ambas muestras de contenido cecal por granja mediante cultivo y aislamiento, no obstante, solamente se tomó en cuenta una muestra de contenido cecal sospechosa por granja para la confirmación por PCR.

Adicionalmente, se recolectaron 24 muestras de muslo de pollo fresco en puntos de venta (PDV). Los PDV se clasificaron como 1) fuera de mercado y 2) dentro de mercado, entendiéndose como 1) fuera de mercado, los establecimientos con una única entrada localizados frente a una calle transitada por vehículos automotores y personas y, 2) los establecimientos dentro de mercado se describen como aquellos ubicados dentro de un mercado municipal, los cuales tienden a ser cerrados y permiten únicamente el tránsito de personas.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio en hielera a una temperatura no superior a 4 °C.

Detección y aislamiento por microbiología tradicional

Para el procesamiento de la carne y la carcasa de pollo se siguió el protocolo ISO 10272-1:2006 modificado por el Departamenteo Agrícola de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) (IFIS-USDA, 2008). A cada muestra se le hizo un enjuague con 400 ml de agua peptonada bufferada-BPW (Oxoid Ltd., Ogdensburg, NY); posteriormente, se tomaron

30 ml del enjuague y se procedió a enriquecer en Caldo Preston (Oxoid Ltd., Ogdensburg, NY), luego se incubó por 48 horas a 42±1 °C, en condiciones de microaerofilia (10%O₂, 5%CO₂ y N₂ para balance), utilizando sobres generadores Campygen (Oxoid Ltd., Ogdensburg, NY).

Consecutivamente, una alícuota de 30 µl del enriquecimiento selectivo fue transferida a las placas de agar Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate-mCCDA (Oxoid Ltd., Ogdensburg, NY). Después de 48 horas de incubación, las colonias presuntivas fueron confirmadas a nivel de género por pruebas enzimáticas (Citocromo-oxidasa C y Catalasa) y se les determinó la morfología microscópica; los aislamientos identificados como *C. jejuni* y *C. coli*, se conservaron a -80 °C.

Para la detección de *Campylobacter* sp. a partir de los ciegos, el contenido cecal fue homogenizado en 20 ml de BPW; 1 ml de la mezcla se transfirió a 9 ml de caldo Preston suplementado. Los periodos de incubación, tiempos y pruebas bioquímicas de tamizaje fueron las mismas empleadas para carne y carcasa de pollo.

Confirmación mediante PCR especie-específico

Los aislamientos pertenecientes al género *Campylobacter* sp., fueron confirmados e identificados a nivel de especie, por PCR múltiples, empleando los genes MapA y CeuE con fragmentos de 589 y 462 pb para *C. jejuni* y *C. coli*, respectivamente (Denis et al., 1999).

La extracción de ADN fue realizada empleando el método de boiling (Denis et al., 2001). Se lavó brevemente una suspensión de las células en cultivo puro, sucesivamente con 1 ml de agua destilada estéril (ADE); las células contenidas en el precipitado rehidratado se lisaron a 90 °C por diez minutos. Previo a la amplificación de los fragmentos de interés, se realizó la cuantificación de ADN en el NanoDrop 1000 Thermo Scientific®, empleando 2 µl del sobrenadante.

Posteriormente, 1 µl del ADN liberado fue adicionado a tubos de PCR que contenían 12,5 µl de GoTaq® Green Master Mix [1x], 20pmol de cada iniciador y agua libre de nucleasas para balance a volumen final de 25 µl (Ebrahim-Rahimi, 2011). La amplificación de los genes fue realizada con un ciclo de activación a 72 °C por un minuto, seguido de

treinta ciclos para denaturación del ADN a 95 ± 2 °C por dos minutos, anillaje a $48,5\pm 2$ °C por un minuto, elongación a 72 ± 2 °C por treinta segundos y un paso de extensión final a 72 ± 2 °C por cinco minutos.

Las cepas de referencia *C. jejuni* ATCC 33560 y *C. coli* ATCC 33559, fueron empleadas como controles positivos, mientras un tubo de reacción libre de ADN y *E. coli* ATCC25922 se utilizó como control negativo.

La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1% teñido con SYBR ®Safe (Invitrogen, USA). Se emplearon 100V, 400 mA y 50 minutos, tiempo requerido para la diferenciación de las bandas del marcador de 100 pb (Ladder; Promega, USA). El gel fue fotodocumentado en un transiluminador Bio-Rad® y las bandas se analizaron con el software ChemiDoc System XRS.

Análisis estadístico

Se cuantificaron las frecuencias absolutas y relativas observadas en cada uno de los tres puntos de muestreo en la cadena avícola.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron analizadas 84 muestras mediante microbiología tradicional: 24 de carne de pollo tomadas en punto de venta, 20 enjuagues de pollo entero crudo y 40 de ciegos tomados en planta de beneficio (dos ciegos por granja). Fue utilizado, como control positivo, *Campylobacter jejuni* ATCC 33560.

De las 84 muestras analizadas, 44 (52,38%) resultaron positivas para *Campylobacter* sp. a nivel de género por microbiología tradicional. El 81,81% de los aislamientos (n=36) fueron confirmados por PCR especie-específico para *C. jejuni* y *C. coli*. Solamente una muestra (1,2%) se confirmó como *Campylobacter coli* (Cuadro 1). Se observó una frecuencia similar de aislamientos en carcasas respecto al contenido cecal, aunque la frecuencia de aislamientos volvió a incrementarse en el punto de venta. En este último nivel, una muestra reveló presencia de ambas especies *C. jejuni* y *C. coli* (Cuadro 1).

Es importante mencionar que hubo 24 (n=40) muestras de contenido cecal en las cuales se presentó un crecimiento de colonias presuntivas de

Cuadro 1. Frecuencia de muestras positivas a *Campylobacter* spp. en muestras de carne de pollo en tres puntos de la cadena de producción de Costa Rica, confirmadas por PCR. Costa Rica. 2012.

Punto de muestreo (n)	# muestras positivas (%)	
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Contenido cecal (20)	16 (80,0)	0 (0,0)
Carcasa (20)	8 (40,0)	0 (0,0)
Punto de venta (24)	12 (50,0)	1 (4,2)

Campylobacter; sin embargo, se practicó PCR a una muestra sospechosa por granja, por lo tanto el resultado positivo correspondiente al nivel de granja, se reportó en 16 (n=20) muestras. Se seleccionó una muestra presuntiva por granja, debido a que en las granjas de aves de engorde, se maneja el sistema “todo dentro todo fuera”, esto quiere decir que todas las aves permanecen bajo las mismas condiciones, por lo que si un ave de un lote o granja está infectado, es altamente probable según las características de agente etiológico estudiado, que el resto de aves presenten la misma condición.

Aunque una limitante de este estudio fue el número de muestras, que no permite hablar con seguridad de una prevalencia de contaminación, la frecuencia de muestras positivas observadas en cada nivel analizado de la cadena, son semejantes a prevalencias observadas en otros países, tanto desarrollados como en vías de desarrollo (Coker et al., 2002; CDC, 2010; Nakari et al., 2011; Zaidi et al. 2012).

Se encontró una frecuencia de *C. jejuni* en 80% de las granjas, mediante el análisis de muestras de contenido cecal, similar al 87% reportado en Costa Rica por Pacheco y Peña (1995); sin embargo, ese estudio fue realizado únicamente a partir de hisopados cloacales. Otro dato cercano es el reportado en Chile por Figueroa et al. (2009), quienes estimaron un 63% de *Campylobacter* a partir de muestras de mucosa cecal, y por Zaidi et al. (2012), quienes reportaron, en México, 93,6% de muestras positivas a este agente a partir de mucosa intestinal.

En las muestras de enjuague de carcasa, a la salida del sistema de enfriamiento, se obtuvo un 40% de *C. jejuni*, la cual contrasta con lo encontrado por Rojas et al. (1996), quienes no demostraron

presencia de *Campylobacter* en el mismo punto de análisis. Un resultado semejante al encontrado en el presente estudio fue descrito en Chile (Figueroa et al., 2009), donde se determinó una ocurrencia de 56% de *Campylobacter* en el mismo punto de la cadena. Guerin et al. (2010) han descrito que el proceso de enfriado cambia la frecuencia de presentación de *Campylobacter* y que esta puede ir entre una disminución de 100% a un aumento de 26,6%.

El promedio de temperatura interna para las carcasas muestreadas fue 2,2 °C (DE 0,6). Todas las muestras estuvieron por debajo del límite máximo del punto crítico de control correspondiente al sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) implementado en la planta muestreada, donde se establece que la temperatura interna de la carcasa debe ser $\leq 4,4$ °C a la salida del sistema de enfriamiento (*chiller*).

La menor frecuencia de aislamiento de este agente en las muestras tomadas mediante enjuague de la carcasa, se podría relacionar con un correcto eviscerado, con la baja temperatura en el tanque de enfriamiento y con la concentración de cloro (20-50 ppm) utilizada en el agua de dicho tanque. Además, en la planta muestreada, se practica un lavado automático de las carcasas evisceradas, con ácido peracético (150-220 ppm) previo al ingreso al tanque de pre-enfriamiento y, se ha demostrado que el ácido peracético tiene buena acción desinfectante, en presencia de materia orgánica (Ferreira et al., 2010).

Dado que *Campylobacter* spp. puede fácilmente colonizar los pollos de engorde y las medidas preventivas en producción primaria tienen un efecto limitado (Wagenaar et al., 2006), las medidas de control a nivel de planta de beneficio son la mejor opción para disminuir la contaminación y la concentración de este patógeno; sin embargo, si no se siguen las medidas adecuadas entre este punto de la cadena y en los puntos de venta, tal esfuerzo sería en vano.

En puntos de venta, las muestras se recolectaron con la siguiente distribución según provincia: 8 de Alajuela, 8 de Heredia y 8 de San José, todas en el Gran Área Metropolitana. En el Cuadro 2, se presenta la distribución de las muestras positivas según la ubicación de los puntos de venta.

En los puntos de venta muestreados, se determinó una frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* sp. en 50% de los muslos. Además, una muestra

Cuadro 2. Distribución de muestras positivas a *Campylobacter* en puntos de venta de carne de pollo por provincia y tipo de establecimiento, en noviembre del 2012. Costa Rica.

Provincia	Tipo de establecimiento(n)	# muestras positivas	
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Heredia	FM (5)	2	0
	DM (3)	2	0
Alajuela	FM (4)	1	0
	DM (4)	1	0
San José	FM (5)	3	0
	DM (3)	3	1

FM: carnicería fuera de mercado; DM: carnicería dentro de mercado.

resultó positiva tanto a *C. jejuni* como *C. coli*. Se han encontrado resultados similares de *Campylobacter* spp. en productos de pollo fresco a la venta, en un estudio en el mercado central de Alajuela, una ciudad con elevada población en Costa Rica (53%) (Cid, 2010). Otros reportes especifican que la prevalencia en cuatro estados mexicanos fue de 58,3% (Zaidi et al., 2012) y en Irán estuvo en un rango entre 58 y 63% (Taremi et al., 2006).

Al momento de la compra de la muestra de pollo en todos los establecimientos, esta se encontraba en una cámara de frío, fue envuelta y entregada en una bolsa plástica; así mismo, se observó que, en el 98,4% (n=23) de los puntos de venta, quien manipula el dinero no es la misma persona que se encarga de atender al cliente, seleccionar y entregar el pedido. Uno de los establecimientos que se ubicaba fuera del mercado, contaba con aire acondicionado, la muestra de este lugar resultó positiva a *C. jejuni*.

El aumento en muestras positivas en punto de venta con respecto al pollo en planta, se podría relacionar con fallas en la cadena de frío del producto, prácticas higiénicas deficientes en los establecimientos y contaminación cruzada con otros productos o el manipulador (Antillón et al., 1987; CDC, 2010).

A partir de los resultados presentados en este estudio, podemos sugerir que las medidas de enfriamiento rápido en la planta de proceso colaboran a disminuir la frecuencia de muestras positivas de *Campylobacter*. Sin embargo, sin una adecuada

manipulación en el punto de venta, no se puede asegurar la permanencia de este estado hasta que el pollo llegue al consumidor. Asimismo, resulta necesario realizar un estudio sistemático en los tres niveles con una mayor cantidad de muestras, para obtener resultados estadísticamente significativos que conlleven trazabilidad. Con el fin de determinar un origen común, es importante genotipificar las cepas de *Campylobacter* spp. encontradas en carne de pollo de Costa Rica y compararlas con las recuperadas de personas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece profundamente al equipo de trabajo del Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional. Además, se agradece al personal del establecimiento procesador, por la colaboración brindada.

LITERATURA CITADA

- Abley, M., T. Wittum, J. Funk, y W. Gebreyes. 2012. Antimicrobial susceptibility, pulsed-field electrophoresis, and multi-locus sequence typing of *Campylobacter coli* in swine before, during, and after the slaughter process. *Foodborne Pathog. Dis.* 9:506-512.
- Ahmed, M., L. Dunn, y E. Ivanov. 2012. Evaluation of current molecular approaches for genotyping of *Campylobacter jejuni* strains. *Foodborne Pathog. Dis.* 9:375-385.
- Antillón, F., E. Odio, y V. García. 1987. Presencia de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *C. laridis* en pollos frescos del área Metropolitana de San José, Costa Rica. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 8:39-41.
- Berrang, M., y J. Dickens. 2000. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. *J. Appl. Poultry. Res* 9:43-47.
- Castrillo, N. 2011. Comparación de 3 técnicas para la detección de *Campylobacter* en muestras de pollos frescos comercializados en el área Metropolitana. Tesis Lic, UCR, Costa Rica.
- CDC (Center for Disease Control). 2010. *Campylobacter*. <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/> (Consultado 21 feb. 2013)
- Cid, A. 2010. Determinación de la presencia de *Campylobacter* spp en pollo y sus derivados, en la provincia de Alajuela. Tesis Lic, UCR, Costa Rica.
- Coker, A., R. Isokpehi, B. Thomas, K. Amisu, y L. Obi. 2002. Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerg Infect Dis.* 8:237-243.
- Denis, M., J. Refregier-Petton, M.J. Laisney, G. Ermel, y G. Salvat. 2001. *Campylobacter* contamination in French chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *J. Appl. Microbiol.* 91:255-267.
- Denis, M., C. Soumet, K. Rivoal, G. Ermel, D. Blivet, G. Salvat, y P. Colin. 1999. Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*, *Lett. Appl. Microbiol.* 29:406-410.
- Domínguez, C., I. Gómez, y J. Zumalacárregui. 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *Int. J. Food. Microbiol.* 72:165-168.
- Eberle, K., y A.S. Kiess. 2012. Phenotypic and genotypic methods for typing *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in poultry. *Poultry Sci.* 91:255-264.
- Ebrahim-Rahimi, M.A. 2011. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from chicken, turkey quail, partridge, and ostrich meat in Iran. *Food Control* 22:1165-1170.
- elsitioavicola. 2011. Tendencias avícolas mundiales: El consumo de pollo en América casi triplica el promedio mundial. <http://www.elsitioavicola.com/articles/2043/tendencias-avicolas-mundiales-el-consumo-de-pollo-en-america-casi-triplica-el-promedio-mundial> (Consultado 13 mar. 2013).
- Ewnetu, D., y A. Mihret. 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from humans and chickens in Bahir Dar, Ethiopia. *Foodborne Pathog. Dis.* 7:667-670.
- Ferreira, F.R., S. Satomi, y A. Coldebella. 2010. Atividade antibacteriana de desinfetantes para uso na produção orgânica de aves. *Ciência Rural* 40:354-358.
- Figuroa, G., M. Troncoso, C. López, P. Rivas, y M. Toro. 2009. Occurrence and enumeration of *Campylobacter* spp. during the processing of Chilean broilers. *BMC Microbiol.* 9:94. doi: 10.1186/1471-2180-9-94.

- Frederick, A., y N. Huda. 2011 *Campylobacter* in poultry: incidence and possible control measures. Res. J. Microbiol. 6:182-192.
- Guerin M, C Sir, J. Sargeant, L. Waddell, A. O'Connor, R. Wills, R. Bailey y J. Byrd. 2010. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: A systematic review. Poultry Sci. 89:1070-1084.
- Lammerding, A., M. García, E. Mann, Y. Robinson, W. Dorward, R. Truscott, y F. Tittiger. 1988. Prevalence of *Salmonella* and thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. J Food Protect. 51:47-52.
- Leonard, E., L. Tompkins, S. Falkow, y I. Nachamkin. 2004. Comparison of *Campylobacter jejuni* isolates implicated in Guillain-Barré Syndrome and strains that cause enteritis by a DNA microarray. Infect Immun. 72:1199-1203.
- Matheus, W., N. Botteldoorn, K. Heylen, B. Pochet, y K. Dierick. 2012. Trend Analysis of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from Belgian pork and poultry meat products using surveillance data of 2004-2009. Foodborne Pathog Dis. 9:465-472.
- Nachamkin, I., J. Engberg, y F.M. Aarestrup. 2000. Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. En: I. Nachamkin, y M.J. Blaser, editores, *Campylobacter*. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C., USA. p. 45-66.
- Nakari, U., M. Hakkinen, y A. Siitinen. 2011. Identification of persistent subtypes of *Campylobacter jejuni* by pulsed-field gel electrophoresis in Finland. Foodborne Pathog Dis. 8:1143-1145.
- Osaili, T., A. Alaboudi, y R. Al-Akhras. 2012. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. in live and dressed chicken in Jordan. Foodborne Pathog Dis. 9:54-58.
- Pacheco, K., y Y. Peña. 1995. Determinación de *Campylobacter* sp en pollos de consumo humano. Tesis Lic, UCR, Costa Rica.
- Rojas, X., Y. Rojas, L. Soto, D.B. Delgado, y F. Hernández. 1996. *Campylobacter* sp. en pollos para consumo humano. Rev. Cost de Ciencias Médicas 17:34-39.
- Tadesse, D., P. Bahnson, J. Funk, S. Thakur, W. Morgan, T. Witten, F. DeGraves, P. Rajala-Schultz, y W. Gebreyes. 2011. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Campylobacter* spp. isolated from conventional and antimicrobial-free swine production systems from different U.S. regions. Foodborne Pathog. Dis. 8:367-373.
- Taremi, M., M. Mehdi, L. Gachkar, S. MoezArdalan, K. Zolfagharian, y M. Reza. 2006. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chickens and beef meat, Tehran, Iran. Int. J. of Food Microbiol. 108:401-403.
- IFIS-USDA (International Food Information Service - United States Department of Agriculture). 2008. MGL 4.04:2008. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry and egg products. Georgia, USA.
- Wagenaar, J.A., D.J. Mevius, y A.H. Havelaar. 2006. *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 25(2):581-594.
- Wright, C. 2010. La industria avícola costarricense. Wattagnet. http://www.wattagnet.com/La_industria_av%C3%ADcola_costarricense.html (Consultado 21 feb. 2013).
- Zaidi, M., P. McDermott, F. Campos, R. Chim, M. León, G. Vázquez, G. Figueroa, E. López, J Contreras, y T. Estrada-García. 2012. Antimicrobial-resistant *Campylobacter* in the food chain in Mexico. Foodborne Pathog Dis. 9:841-847.

