



Departamento de Sanidad Animal

Doctoral Thesis
(International Mention)

Campylobacter spp. from farms and slaughterhouse of broilers and from domestic dogs in Andalusia: microbiological and epidemiological study and antimicrobial susceptibility analysis

Tesis Doctoral
(con Mención Internacional)

Campylobacter spp. en granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana

Alicia Torralbo Montoro
Córdoba, 18 de julio de 2013

TITULO: *Campylobacter spp. en granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana*

AUTOR: ALICIA TORRALBO MONTORO

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2013
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: *Campylobacter* spp. en granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana.

DOCTORANDO/A: Alicia Torralbo Montoro

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La tesis presentada por la doctoranda previamente mencionada se ha realizado en el período comprendido entre 2007 y 2013, comprendiendo el estudio de la infección por especies del género *Campylobacter*, agente causal más frecuentemente involucrado en la presentación de zoonosis, en dos de las principales fuentes de infección para el hombre: los perros, como animales de compañía, y el pollo. Este último reservorio ha sido estudiado tanto a nivel de las granjas, donde se ha realizado un extenso estudio epidemiológico, como a nivel de matadero y la planta de procesado. Dichos estudios nos han permitido conocer el origen, la distribución, las especies y los factores de riesgo asociados a la infección por especies de este género en Andalucía. Además, se ha determinado la resistencia antimicrobiana de los aislamientos del género *Campylobacter* a partir de perros, pollos de granjas y carne de pollo frente a distintos antibióticos usados tanto en el manejo sanitario de las explotaciones de broilers como en el tratamiento de la campilobacteriosis en personas. Hasta el momento apenas se han realizado estudios de este tipo en España y ninguno de tal envergadura, siendo el primero que se realiza en Andalucía acerca de la infección por especies de este género.

Con objeto de completar su formación, principalmente en la aplicación de técnicas moleculares, la doctoranda realizó una estancia de tres meses en la Universidad de Swansea (Reino Unido), donde trabajó con el Doctor Samuel Sheppard, una de las principales autoridades del mundo en el estudio de las especies del género *Campylobacter*.

La tesis doctoral ha dado lugar a la siguiente publicación en revistas indexadas en el JCR:

- Carbonero A, Torralbo A, Borge C, García-Bocanegra I, Arenas A, Perea A. 2012. *Campylobacter* spp., *C. jejuni* and *C. upsaliensis* infection-associated factors in healthy and ill dogs from clinics in Cordoba, Spain. Screening tests for antimicrobial susceptibility. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 35: 505-512.

Así mismo, se encuentran actualmente en revisión un artículo acerca de la epidemiología en granjas de broilers y otro sobre la variación de la prevalencia de las distintas especies durante el procesado en el matadero, que incluye también el estudio de sensibilidad antimicrobiana en la carne de pollo.

Las comunicaciones presentadas en congresos científicos derivadas de la tesis doctoral fueron:

- Torralbo, A., Borge, C., Cantero, J.G., García-Bocanegra, I., Arenas, A., Arenas-Montes, A., Perea, A., Carbonero, A. 2012. Estudio epidemiológico de la infección por *Campylobacter* spp. en broilers en Andalucía. Trabajo expuesto en formato póster y de forma oral. 49 Simposio Científico de Avicultura. Organizado por la Asociación Española de Ciencia Avícola (AECA) 4 y 5 de Octubre, Barcelona. COMUNICACIÓN ORAL.
- Torralbo, A., Borge, C., García-Bocanegra, I., Arenas, A., Arenas-Montes, A., Perea, A., Carbonero, A. 2013. Evaluación de la prevalencia de especies del género *Campylobacter* desde los broilers en granjas hasta la carne de pollo lista para consumo en Andalucía. III Congreso Científico de Investigadores en Formación de la Universidad de Córdoba y II Congreso Científico de Investigadores en Formación de Agroalimentación. Organizado por la Universidad de Córdoba (UCO). Córdoba, España 9 -10 de Abril de 2013. COMUNICACIÓN ORAL.
- A. Carbonero, A. Torralbo, C. Borge, I. García-Bocanegra, A. Arenas, A. Arenas-Montes, JC. Gómez-López, A. Perea. 2010. Optimización de un Método para realizar PCR a partir de Muestras Congeladas de Cepas del Género *Campylobacter* en medios semisólidos. XV Simposio Anual de AVEDILA. Organizado por AVEDILA (Asociación de Veterinarios Especialistas en Diagnóstico Laboratorial). Zaragoza, 19 y 20 de noviembre de 2010. PÓSTER.
- A. Carbonero, A. Arenas, A. Torralbo, C. Borge, I. García, A. Perea. 2009. In vitro antimicrobial susceptibility of *Campylobacter*, strains isolated from dogs in clinics in Cordoba. Methodological contributions. 14th International Symposium for the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. Madrid (España), 18 al 20 de junio de 2009. PÓSTER.
- A. Carbonero, A. Arenas, E. Campos, B. Huerta, C. Borge, I. García, A. Torralbo, A. Perea. 2008. Factores de riesgo de la infección por agentes del género *Campylobacter* spp. en perros procedentes de clínicas en Córdoba. I Congreso Ibérico de Epidemiología Veterinaria. Organizado por la Soc. Portuguesa de Cc. Veterinarias y Soc. Portuguesa de Epidem. y Medicina Preventiva Veterinaria. Fonte boa, Vale de Santarém (Portugal), 27 al 29 de noviembre de 2008. PÓSTER.

Por todo ello, se autoriza la presentación y defensa de la tesis doctoral titulada "Campylobacter spp. en granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana"

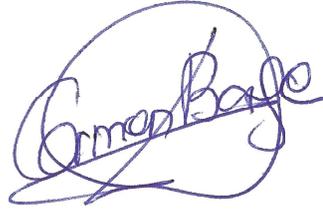
elaborada por la Lda. en veterinaria D^a. Alicia Torralbo Montoro para la obtención del título de doctor.

Córdoba, 16 de julio de 2013

Firma del/de los director/es



Fdo.: Alfonso Carbonero Martínez



Fdo.: Carmen Borge Rodríguez

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
HISTORIA E IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	11
ETIOLOGÍA.....	13
EPIDEMIOLOGÍA.....	18
Distribución geográfica y reservorios.....	18
Indicadores epidemiológicos y de salud.....	21
Factores de riesgo relacionados con el hospedador.....	25
Factores de riesgo relacionados con el manejo y medio ambiente.....	27
Factores de riesgo relacionados con el agente.....	32
Contagio.....	37
PATOGENIA.....	41
CLÍNICA Y LESIONES.....	49
DIAGNÓSTICO.....	52
LUCHA.....	58
OBJECTIVES/OBJETIVOS	67
MATERIAL Y MÉTODOS	73
POBLACIÓN Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	75
Granjas de broilers.....	75
Matadero de broilers.....	80
Perros en clínicas veterinarias.....	83
TOMA DE MUESTRAS.....	84
Granjas de broilers.....	84
Matadero de broilers.....	86
Perros en clínicas veterinarias.....	88
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	88
EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR.....	89
ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	90
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	92
Granjas de broilers.....	92
Matadero de broilers.....	94

Perros en clínicas veterinarias.....	94
Sensibilidad antimicrobiana.....	95
RESULTADOS	97
GRANJAS DE BROILERS.....	99
MATADERO DE BROILERS.....	107
Estudio 1: prevalencia y prevalencia relativa de <i>Campylobacter</i> durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada.....	107
Estudio 2: variación de la prevalencia de <i>Campylobacter</i> a lo largo de la jornada de sacrificio.....	113
PERROS DE CLÍNICAS VETERINARIAS.....	114
SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	120
Granjas de broilers.....	121
Matadero de broilers.....	122
Perros de clínicas veterinarias.....	124
DISCUSIÓN	127
GRANJAS DE BROILERS.....	129
MATADERO DE BROILERS.....	139
PERROS DE CLÍNICAS VETERINARIAS.....	146
SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	150
Granjas de broilers.....	150
Matadero de broilers.....	153
Perros de clínicas veterinarias.....	155
CONCLUSIONS/CONCLUSIONES	159
SUMMARY/RESUMEN	169
AGRADECIMIENTOS	179
REFERENCIAS	183

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

INTRODUCCIÓN

Figura 1. Consumo mundial per cápita de carne de cerdo, pollo y ternera.....	5
--	---

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Figura 2. Publicación y dibujo original del microorganismo en forma de espiral observado por Escherich (1886) en el aparato digestivo de los niños fallecidos por gastroenteritis.....	11
Figura 3. Distribución de las especies de <i>Campylobacter</i> en diferentes reservorios.....	21
Figura 4. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> spp. en lotes de broilers de la UE en 2008.....	22
Figura 5. Tasa de incidencia real estimada de la campilobacteriosis humana en la UE.....	24
Figura 6. Número de casos de campilobacteriosis y salmonelosis humana en España, 2005-2011.....	24

MATERIAL Y MÉTODOS

Figura 7. Mapa de España y Andalucía mostrando cada provincia andaluza.....	75
Figura 8. Distribución geográfica de la producción de carne de pollo en España en el año 2008.....	80
Figura 9. Estructura general del trabajo realizado en el matadero desde que un lote de broilers llega desde la granja hasta que su carne está preparada para ser comercializada.....	81
Figura 10. Esquematación de la toma de muestras en el matadero/sala de despiece....	83
Figura 11. Toma de muestras: cloaca y agua del bebedero.....	85
Figura 12. Colonias de <i>Campylobacter</i> en medio selectivo (izquierda) y en agar sangre (derecha).....	89

RESULTADOS

Figura 13. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> (%) por zonas en muestras de origen animal (<i>estudio 1</i>).....	108
Figura 14. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> (%) por zonas en muestras ambientales (<i>estudio 1</i>).....	109
Figura 15. Prevalencia relativa de <i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> en cada zona del matadero (<i>estudio 1</i>).....	110
Figura 16. Prevalencia relativa de <i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> según el origen de las muestras (<i>estudio 1</i>).....	112
Figura 17. Relación entre la estación del año en la que se realizó el muestreo y la infección con <i>Campylobacter</i> en perros domésticos.....	116
Figura 18. Relación entre la edad y la infección con <i>Campylobacter</i> en perros domésticos.....	116

DISCUSIÓN

Figura 19. Presencia de perros/gatos en la granja.....	133
Figura 20. Persianas de lona plegadas durante la limpieza y desinfección de la nave de broilers.....	135

TABLAS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1. Características fenotípicas y bioquímicas de las especies de <i>Campylobacter</i> de significado clínico (Lastovica y Allos, 2008).....	16
Tabla 2. Reservorios de <i>Campylobacter</i> spp. en diferentes estudios a nivel mundial.....	20
Tabla 3. <i>Campylobacter</i> en carne de pollo fresca en España, 2008-2010.....	23

MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 4. Distribución provincial de las granjas de broilers en Andalucía en 2011 según la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.....	76
Tabla 5. Descripción del origen de las muestras tomadas en las diferentes zonas del matadero.....	82
Tabla 6. Distribución provincial de los lotes y las granjas de broilers muestreados en Andalucía.....	84
Tabla 7. Número y porcentaje de muestras cloacales y ambientales tomadas en granjas de broilers.....	85
Tabla 8. Número de muestras tomadas durante el seguimiento de cinco granjas.....	85
Tabla 9. Número y porcentaje de muestras tomadas en cada estudio y en cada zona del matadero/sala de despiece.....	86
Tabla 10. Número y porcentaje de muestras tomadas durante toda la jornada de sacrificio según el momento de trabajo en el matadero/sala de despiece (<i>estudio 2</i>).....	87
Tabla 11. Número y porcentaje según el origen de las muestras tomadas en cada estudio en el matadero/sala de despiece.....	88

RESULTADOS

Tabla 12. Datos descriptivos de las granjas de Andalucía: variables numéricas.....	99
Tabla 13. Datos descriptivos de las granjas de Andalucía: variables categóricas.....	99
Tabla 14. Distribución de la proporción relativa de las especies de <i>Campylobacter</i> aisladas en lotes de broilers.....	101
Tabla 15. Distribución según la edad de la prevalencia intrarrebaño media en los lotes de broilers positivos a <i>Campylobacter</i>	102
Tabla 16. Distribución según la edad de las especies de <i>Campylobacter</i> en los lotes de broilers positivos.....	102
Tabla 17. Análisis univariable de las variables asociadas con la infección con <i>Campylobacter</i> ($p \leq 0,1$) en 275 lotes de broilers mayores de 13 días de edad.....	103
Tabla 18. Estudio univariable de la estación del año en granjas.....	104
Tabla 19. Modelo de regresión logística de la infección con <i>Campylobacter</i> en 275 lotes de broilers mayores de 13 días en Andalucía.....	104
Tabla 20. Detección de <i>Campylobacter</i> a partir de las muestras ambientales tomadas en el entorno de las naves de los broilers.....	105
Tabla 21. Resultados obtenidos en el seguimiento de cinco granjas.....	106
Tabla 22. Evolución de la prevalencia de <i>Campylobacter</i> por zonas en muestras de origen animal (<i>estudio 1</i>).....	107
Tabla 23. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> por zonas en muestras ambientales (<i>estudio 1</i>).....	108
Tabla 24. Especies de <i>Campylobacter</i> en cada zona del matadero (<i>estudio 1</i>).....	109

Tabla 25. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> según el origen de las muestras tomadas en matadero (<i>estudio 1</i>).....	111
Tabla 26. Especies de <i>Campylobacter</i> según el origen de las muestras (<i>estudio 1</i>).....	111
Tabla 27. Test de Bonferroni (valor de <i>p</i>) comparando la prevalencia relativa (<i>C. jejuni/C. coli</i>) según el origen de las muestras (<i>estudio 1</i>).....	112
Tabla 28. Prevalencia de <i>Campylobacter</i> en cada zona del matadero durante toda la jornada de (<i>estudio 2</i>).....	113
Tabla 29. Resultados para cada especie de <i>Campylobacter</i> según el momento del muestreo durante toda la jornada de sacrificio en cada zona del matadero/sala de despiece (<i>estudio 2</i>).....	114
Tabla 30. Datos descriptivos del estudio realizado en perros domésticos de clínicas veterinarias.....	115
Tabla 31. Test de Bonferroni (valor de <i>p</i>) comparando la prevalencia (<i>Campylobacter/C. jejuni/C. upsaliensis</i>) en cada categoría de edad.....	117
Tabla 32. Test de Bonferroni (valor de <i>p</i>) comparando la prevalencia (<i>Campylobacter/C. jejuni/C. upsaliensis</i>) en cada estación del año.....	117
Tabla 33. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con <i>Campylobacter</i> en perros domésticos.....	118
Tabla 34. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con <i>C. jejuni</i> en perros domésticos.....	118
Tabla 35. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con <i>C. upsaliensis</i> en perros domésticos.....	119
Tabla 36. Modelos de regresión logística de la infección con <i>Campylobacter</i> en perros domésticos.....	120
Tabla 37. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de 50 aislamientos de <i>Campylobacter</i> de granjas de broilers.....	121
Tabla 38. Distribución de los 50 aislamientos de <i>Campylobacter</i> de granjas de broilers por CMI (mg/L) para cada antibiótico.....	122
Tabla 39. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de <i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni+C.coli</i>) aislados a partir de carne de pollo.....	122
Tabla 40. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de las especies de <i>Campylobacter</i> aisladas a partir de carne de pollo.....	122
Tabla 41. Distribución de los aislamientos de <i>Campylobacter</i> (<i>C.jejuni+C. coli</i>) de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico.....	123
Tabla 42. Distribución de los 30 aislamientos de <i>C. jejuni</i> de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico.....	123
Tabla 43. Distribución de los 30 aislamientos de <i>C. coli</i> de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico.....	124
Tabla 44. Multirresistencia determinada para 30 aislamientos de <i>C. jejuni</i> y 30 de <i>C. coli</i> procedentes de carne de pollo.....	124
Tabla 45. Resultados de la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de <i>Campylobacter</i> (<i>C.jejuni+C.upsaliensis</i>) de los perros domésticos.....	125
Tabla 46. Resultados de la sensibilidad antimicrobiana de las especies de <i>Campylobacter</i> aisladas a partir de los perros domésticos.....	125
Tabla 47. Multirresistencia determinada para 39 aislamientos de <i>C. jejuni</i> y 50 de <i>C. upsaliensis</i> procedentes de perros domésticos.....	126

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la ganadería avícola ha alcanzado la mejor productividad global en el sector pecuario, siendo actualmente Estados Unidos y China los mayores productores de carne de ave (MARM, 2010; FAO, 2012; MAGRAMA, 2013). Dentro de esa clasificación, España ocupa el undécimo lugar (MARM, 2010), desempeñando un papel secundario respecto a la exportación e importación, al considerarse en este sentido un país autosuficiente (European Commission, 2011).

Al referirnos a los países de la Unión Europea (UE), observamos como Reino Unido es el mayor productor de carne de pollo con el 14,5 por ciento de la producción, seguido de España (12%) y Francia (11,3%) (MAGRAMA, 2013). En España, el pollo representa el veinte por ciento del total de producción de carne, ocupando el segundo lugar después de la carne de cerdo (MARM, 2010). Por comunidades, Cataluña es la primera Comunidad Autónoma productora de carne de pollo (22%), seguida muy de cerca por Andalucía (20%) (MAGRAMA, 2013). En lo referente a su consumo, hay una clara preferencia por el producto fresco (el 90% de la producción total), dejando el pollo congelado principalmente para el desarrollo de productos transformados. Así, Andalucía, con el 18 por ciento del consumo nacional, es la primera consumidora de carne de ave fresca (MARM, 2010).

La mayor parte de la carne de pollo proviene de los broilers (*Gallus gallus domesticus*), pollos criados específicamente para la producción de carne, siendo las líneas *Ross* y *Cobb* las más comunes en Andalucía. El Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA) señaló que el número de explotaciones de broilers en España en 2013 fue de 5.040. Concretamente en Andalucía, aparecen 812 explotaciones, siendo la segunda Comunidad Autónoma con mayor número de explotaciones de pollo para carne, solo por detrás de Cataluña (1.009 explotaciones) y por delante de Galicia (722 explotaciones).

Podemos decir que el sector avícola de carne en España se caracteriza por un sistema de producción intensivo (European Commission, 2011). Además, según un informe emitido en

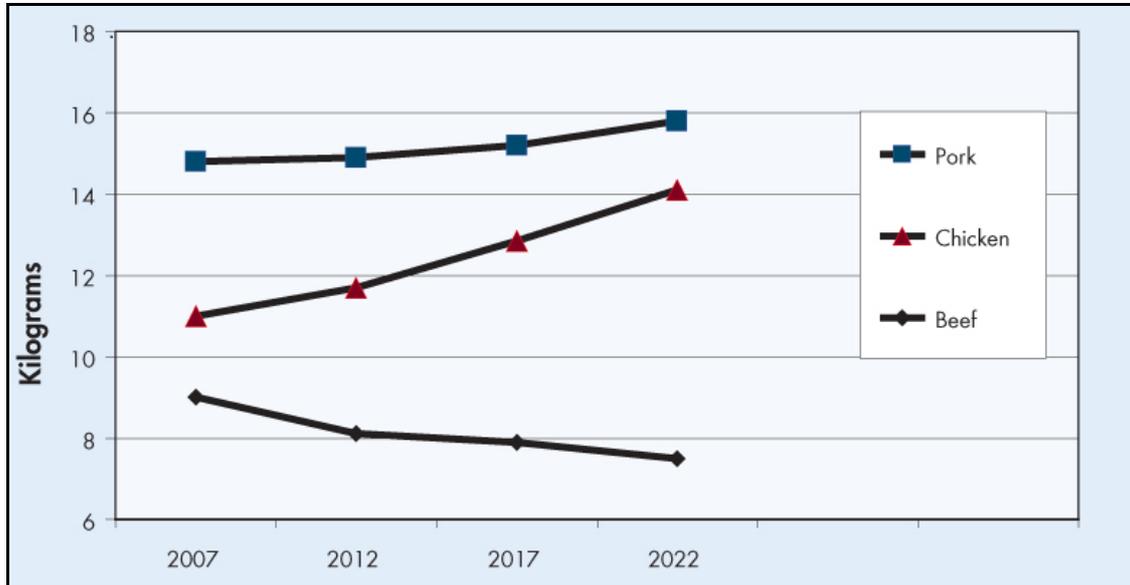
2006 por la empresa Alimarket S.A. (empresa líder en generación de contenidos de información económico-sectorial en España), el noventa por ciento del pollo comercializado en España está controlado por empresas que integran el proceso de producción y transformación. Así, el 65,2 por ciento del mercado español está distribuido entre diez empresas integradoras, tres de ellas cooperativas. De este modo, las granjas de las reproductoras y las salas de incubación suelen ser propiedad de la empresa integradora quien suministra al granjero, además de los pollitos, el pienso y la asistencia técnica y veterinaria necesaria. Así, el granjero trabaja para la compañía integradora realizando en su granja todas las faenas que requiere el cebo durante alrededor de cincuenta días en los que los animales alcanzan el peso suficiente para ser sacrificados. Finalmente, la empresa realiza la carga y el transporte de los pollos desde la granja al matadero y el granjero percibe de la integradora un pago por sus servicios.

En la etapa de sacrificio y procesado, el grado de integración vertical es también muy alto. En el matadero los animales son sacrificados y las canales se evisceran, refrigeran y clasifican a la vez que se llevan a cabo exigentes controles de calidad y trazabilidad. Asimismo, las empresas integradas son responsables del transporte de las canales a las salas de despiece, plataformas de distribución o carnicerías tradicionales. El número de mataderos de pollo en España está en torno a los ciento cincuenta, la mayoría de ellos de pequeño tamaño, con una capacidad de producción de unas cinco mil toneladas de canales al año. Por otra parte, los mataderos de mayor capacidad son generalmente propiedad de las empresas integradoras más importantes en España, generando unas 21.000 toneladas de canales de pollo al año, lo que supone el 65 por ciento de la producción total de carne de nuestro país (European Commission, 2011).

Desde el año 2005, la campilobacteriosis representa la zoonosis más importante a nivel mundial (WHO, 2011; EFSA Journal, 2012a; OIE, 2013), alcanzando los 220.209 casos confirmados en la Unión Europea en el año 2011 (EFSA Journal, 2013). Esta enfermedad se transmite a los humanos sobre todo por el consumo de carne de pollo (WHO, 2011), hecho que condiciona su mayor repercusión a medida que aumenta el consumo de carne de pollo. Las estimaciones para los próximos veinte años a este respecto sugieren un aumento exponencial en el consumo de este tipo de carne superando incluso al consumo de carne de cerdo por lo que se torna urgente el establecimiento de adecuadas medidas para el control de esta enfermedad (Fig. 1) (Aho, 2012). Además del consumo de carne de pollo, el contacto con animales de compañía también supone una importante vía de infección para las personas (EFSA Journal, 2005; Workman y cols., 2005); hecho a destacar puesto que, según datos del

2009, existen cinco millones de perros censados que conviven como mascota en casi la mitad de los hogares españoles (49,3%) (ANFAAC, 2009).

Figura 1. Consumo mundial per cápita de carne de cerdo, pollo y ternera



Fuente: Aho, 2012; USDA, 2012

La campilobacteriosis humana es causada principalmente por las especies *C. jejuni* y *C. coli* (OIE, 2008) aunque *C. lari* y *C. upsaliensis* presenta también una importancia notable (Labarca y cols., 2002; EFSA Journal, 2012a). En los humanos, *Campylobacter* causa gastroenteritis (WHO, 2011) describiéndose también infecciones extraintestinales especialmente en personas con inmunosupresión (De Vries y cols., 2008). Por el contrario, en los animales, *C. jejuni* y *C. coli* no causan enfermedad clínica, excepto en casos esporádicos de abortos en ruminantes y casos muy raros de hepatitis en avestruces (OIE, 2008). En los perros sin embargo, este hecho es controvertido al demostrar algunos estudios que tanto *C. jejuni* como *C. upsaliensis* pueden causar gastroenteritis en perros (Olson y Sandstedt, 1987), mientras que otros indicarían lo contrario (Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011).

Las diferentes especies del género *Campylobacter* están ampliamente distribuidas tanto en los animales destinados al consumo humano o productores de alimentos, como en los animales de compañía. De esta forma, es posible encontrar esta bacteria como comensal del tracto digestivo de los broilers (Ansari-Lari y cols., 2011), vacas de leche (Englen y cols., 2007), cerdos (Keller y cols., 2007), cabras, patos (Chattopadhyay y cols., 2001), ovejas, pavos, avestruces (Siemer y cols., 2004), ciervos, jabalíes, liebres (Engvall y cols., 2002) y mariscos

(O'Leary y cols., 2011); así como en perros (Koene y cols., 2009) y gatos (Wieland y cols., 2005). En este sentido, Keller y cols. (2007) demostraron que dependiendo del hospedador, podemos encontrar distintas especies de *Campylobacter* predominantes. Así, las especies aisladas con mayor frecuencia en broilers son *C. jejuni* y *C. coli* (Keller y cols., 2007; Ansari-Lari y cols., 2011; Henry y cols., 2011), siendo *C. jejuni* y *C. upsaliensis* las predominantes en perros (Hald y cols., 2004).

Como se apuntaba anteriormente, la carne de pollo cruda o cocinada insuficientemente es la fuente más importante de campilobacteriosis para los humanos (Sheppard y cols., 2009), siendo un destacado factor de riesgo la contaminación cruzada entre la carne de pollo cruda y las manos o utensilios de cocina (cuchillos, tablas de cortar) (Luber y cols., 2006). No obstante, existen otras categorías de alimentos que pueden estar implicadas en la transmisión, tales como la carne de cerdo mal cocinada, la leche mal pasteurizada o cruda, y el agua sin potabilizar. Además, existen otras vías de infección diferentes a la alimentaria que también deben ser consideradas, como el contacto con los animales de abasto, la transmisión persona a persona y el contacto con perros y gatos (EFSA Journal, 2005).

Para reducir los niveles de contaminación de *Campylobacter* en la producción primaria y por consiguiente en la carne de pollo que llegará al consumidor (Rosenquist y cols., 2003) es fundamental profundizar en el estudio de la epidemiología de esta bacteria en las granjas de broilers, pues existen aún lagunas que impiden su comprensión de forma completa (Humphrey y cols., 2007). El hecho de que la transmisión horizontal es responsable de la colonización del aparato digestivo de los broilers se ha demostrado en numerosos estudios (Pérez-Boto y cols., 2010; Newell y cols., 2011). Sin embargo, el papel de la transmisión vertical desde los padres a sus descendientes no está claro (Callicott y cols., 2006), siendo poco frecuente que los broilers estén infectados antes de los 14 días de edad (Bull y cols., 2006; Hansson y cols., 2007).

Hay estudios que apuntan que son varias las fuentes de infección que pueden jugar un papel importante en la epidemiología de *Campylobacter* en las granjas de broilers. Así, Ridley y cols. (2011) aislaron *Campylobacter* en los alrededores de una granja antes de que esta bacteria fuese detectada en los broilers dentro de la nave. Además, *Campylobacter* se ha aislado en gorriones (Sippy y cols., 2012) y moscas (Choo y cols., 2011) capturados en granjas. Por otra parte, factores tales como la presencia de varias naves en una granja (Lyngstad y cols., 2008; Henry y cols., 2011), la mayor edad de los animales (Ansari-Lari y cols., 2011), el suministro de agua sin desinfectar para los broilers (Sasaki y cols., 2011), la falta de limpieza en

las naves o la presencia de otros animales a menos de un kilómetro de la granja suponen un riesgo para la infección. Por el contrario, cambiarse el calzado con mayor frecuencia antes de entrar en la nave o no llevar a cabo la despoblación parcial de la granja han demostrado ser factores de protección (Hansson y cols., 2010).

En el momento del sacrificio y procesado de los broilers, llegan al matadero un elevado número de lotes infectados con *Campylobacter* (EFSA Journal, 2012a), lo que permite aislar al agente a lo largo de todas las etapas de la cadena del procesado (Melero y cols., 2012). La evisceración y el contacto con las instalaciones y el agua de escaldado contaminada con *Campylobacter* pueden dar lugar a contaminaciones cruzadas en las canales (Chantarapanont y cols., 2004). Por otra parte, se ha descrito como a lo largo de la cadena en el matadero el número de *Campylobacter* en las canales puede disminuir por el agua de escaldado o la refrigeración, aunque estas fases del procesado no son efectivas para eliminar por completo el microorganismo en el producto final que llega hasta el consumidor (Rosenquist y cols., 2006). Este hecho explica la alta prevalencia (75,8%) de canales de pollo contaminadas con *Campylobacter* en la UE en el año 2008 (EFSA Journal, 2010), siendo *C. jejuni* más frecuente que *C. coli* (EFSA Journal, 2010). En España, durante ese mismo año la prevalencia de canales contaminadas (92,6%) fue mayor que la media de la UE (EFSA Journal, 2010).

En cuanto a los perros domésticos, anteriormente se ha señalado que podemos encontrar *Campylobacter* en el aparato digestivo de estos animales (Koene y cols., 2009), demostrándose su papel como fuente de infección para los humanos (Workman y cols., 2005). De hecho, diversos estudios consideran que aproximadamente el seis por ciento de los casos de campilobacteriosis humana se deben al contacto con animales domésticos (Tenkate y Stafford, 2001; Rossi y cols., 2008). Por lo tanto, aunque el consumo de carne de pollo es la causa más importante de campilobacteriosis humana, no hay que desestimar que el contacto con perros supone también una posible vía de infección.

Por otra parte, al tratarse *Campylobacter* de un patógeno zoonótico, la aparición de cepas resistentes aisladas a partir de reservorios animales presenta serias implicaciones en salud pública, siendo la eliminación de estas resistencias uno de los principales retos sanitarios del siglo XXI (Moore y cols., 2006). La resistencia de *Campylobacter* frente a distintos antimicrobianos han sido descritas tanto en cepas aisladas en broilers (Avrain y cols., 2003a) y carne de pollo (Ge y cols., 2003), así como en perros domésticos (Acke y cols., 2009a). Por lo general, *Campylobacter* presenta menos resistencia frente a la gentamicina y la eritromicina

(Lee y cols., 2004; Acke y cols., 2009a; Krutkiewicz y cols., 2009), aunque hay estudios que muestran un aumento en el número de aislamientos resistentes a la eritromicina (81,8%) (Tsai y cols., 2007). En general, la resistencia de *Campylobacter* frente a los antimicrobianos ha aumentado a lo largo de los últimos años, especialmente en el caso de las fluoroquinolonas, tratamiento de elección en humanos, lo que supone importantes consecuencias para la salud pública (Luber y cols., 2003).

Dado que la campilobacteriosis es la zoonosis más frecuente a nivel mundial y la principal causa es el consumo de carne de pollo, consideramos de gran interés su estudio, sobre todo al no existir en España trabajos previos sobre las fuentes y factores de riesgo asociados a la infección de *Campylobacter* en los lotes de broilers en granja. Además, este estudio aporta datos sobre la prevalencia de las distintas especies de *Campylobacter*, estimándose su frecuencia a lo largo del procesado en el matadero (desde el sacrificio hasta la carne de pollo que llegará al consumidor) y los puntos críticos para la contaminación de las canales. Al mismo tiempo, hemos incluido el estudio de la frecuencia de infección de *Campylobacter* en perros y los factores de riesgo asociados en esta especie. Por último, debido a su repercusión en salud pública se ha determinado el perfil de resistencia frente a diversos antimicrobianos de los aislamientos de *Campylobacter* procedentes de broilers, de carne de pollo y de perros domésticos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

HISTORIA E IMPORTANCIA ECONÓMICA

La primera descripción de las bacterias del género *Campylobacter* podría remontarse al siglo XIX, cuando Escherich observó unos microorganismos con forma de espiral en muestras de heces y en el aparato digestivo de niños que murieron como consecuencia de un proceso de gastroenteritis (Fig. 2) (Escherich, 1886, Butzler, 2004). Estos hallazgos pasaron inadvertidos durante décadas hasta que en 1985 se sugirió que podría tratarse de *Campylobacter* (Kist, 1985; Butzler, 2004).

Figura 2. Publicación y dibujo original del microorganismo en forma de espiral observado por Escherich (1886) en el aparato digestivo de los niños fallecidos por gastroenteritis



En veterinaria, los primeros hallazgos datan de hace más de un siglo cuando en 1909 McFadyean y Stockman aislaron una bacteria desconocida parecida a un vibrión en fetos de ovejas (McFadyean y Stockman, 1913). Años más tarde, Smith (1919) encontró en abortos de bovinos una bacteria que describió como un espirilo, llegando a la conclusión de que se trataba del mismo agente encontrado en 1909. Así, puesto que la morfología era parecida a un vibrión, Smith y Taylor (1919) propusieron para este microorganismo el nombre de *Vibrio fetus*. Por otro lado, Jones y cols. (1931) observaron en heces de terneros unos vibriones a los que llamaron *Vibrio jejuni* y Doyle (1948) se refirió con el nombre de *Vibrio coli* a bacterias observadas con la misma morfología en cerdos con disentería.

En humanos, el primer brote de campilobacteriosis documentado data de 1938 cuando se constató la presencia de *V. jejuni* en 355 personas con gastroenteritis que habían consumido la misma leche (Levy, 1946; Butzler, 2004).

El género *Campylobacter* no se estableció hasta 1963; al encontrarse que en realidad estos microorganismos no tenían las mismas características bioquímicas que los del género *Vibrio* (Sebald y Véron, 1963). Diez años más tarde, *Vibrio jejuni* y *Vibrio coli* pasaron a ser *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, respectivamente (Véron y Chatelain, 1973), mientras que Smibert los agrupó a ambos como *C. fetus* subespecie *jejuni* en 1974. La razón por la que hasta los años 70 existen pocos documentos sobre campilobacteriosis, a la que llamaban vibriosis, fue la ausencia de las técnicas selectivas de cultivo necesarias para el aislamiento de este organismo en heces, por lo que la infección podía ser diagnosticada solo a partir de la sangre de infecciones con bacteriemia, realizando el diagnóstico mediante caldos de cultivo de sangre o la observación directa al microscopio (Butzler, 2004). En la década de los 70, Dekeyser y cols. (1972) publicaron el primer aislamiento de *Campylobacter* en las heces de una mujer con bacteriemia, demostrándose la infección intestinal como el origen de ésta.

Asimismo, se demostró la capacidad de *Campylobacter* de colonizar el aparato digestivo de los animales, encontrándose una estrecha relación antigénica entre las cepas de *Campylobacter* aisladas en los animales y los humanos (Butzler, 1974; Hastings, 1978). Más tarde, Skirrow (1977) describió una técnica sencilla para el cultivo de *C. jejuni* y *C. coli* a partir de muestras de heces de humanos, desarrollándose a continuación medios selectivos que hicieron posible que el aislamiento de *Campylobacter* se incluyera en la práctica microbiológica (Butzler y cols., 1983; Bolton y cols., 1984; Goossens y cols., 1986; Karmali y cols., 1986; Goossens y cols., 1989). Finalmente, los estudios de Penner y Hennessy (1980) y Lior y cols. (1982) permitieron la serotipificación de las cepas, técnica que sigue siendo la base de la caracterización de cepas de *Campylobacter* (Butzler, 2004). No fue hasta los años 80 cuando *Campylobacter* fue reconocido como la causa más frecuente de gastroenteritis bacteriana en el hombre (Butzler, 2004), señalando como fuente de infección más importante para los humanos el consumo de carne de pollo (Barot y cols., 1983; Lindblom y cols., 1986; Hood y cols., 1988). Desde entonces, además de la preocupación por reducir las tasas de infección por *Campylobacter* en broilers (Thorén y cols., 1988; Neill y cols., 1984; Lindblom y cols., 1986), se realizaron los primeros estudios sobre la importancia de la contaminación de la superficie de la carne de pollo durante el procesado en el matadero (Simmons y Gibbs, 1979; Barot y cols., 1983; Hood y cols., 1988).

Al mismo tiempo, Skirrow (1981) se refirió a la transmisión de *Campylobacter* desde los perros domésticos a las personas como una “nueva zoonosis”. De esta forma, el nombre de la especie *C. upsaliensis*, predominante en perros junto con *C. jejuni* (Hald y cols., 2004), fue propuesto en 1986 por Sandstedt y Ursing, siendo identificada previamente como *Campylobacter* spp. dentro del grupo de las cepas de *Campylobacter* catalasa negativas o débilmente positivas (Sandstedt y cols., 1983). A su vez, se mostraba interés sobre la infección de las personas con cepas de *Campylobacter* resistentes a los antimicrobianos comenzando así los primeros estudios sobre este tema (Taylor y cols., 1981; Vanhoof y cols., 1982; Tenover y cols., 1985).

A pesar de la alta prevalencia de infección que las cepas de *Campylobacter* presentan en animales de producción y de compañía, solamente se trata de un comensal intestinal que no causa enfermedad de forma primaria y sin graves repercusiones económicas (WHO, 2011). De forma esporádica, *C. jejuni* puede causar abortos en rumiantes (Wagenaar y cols., 2006), así como casos de hepatitis en gallinas (Burch, 2005) y avestruces (OIE, 2008) o procesos de gastroenteritis en perros, procesos estos últimos discutidos al encontrar diversos estudios resultados opuestos (Burnens y cols., 1992; Rossi y cols., 2008; Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011).

En los Estados Unidos se ha estimado que reducir la presencia de *Campylobacter* en los alimentos podría prevenir costes de hasta 5,6 billones de dólares anuales en el tratamiento de la campilobacteriosis en humanos (Buzby y cols., 1997). Asimismo, el coste de esta zoonosis en Nueva Zelanda en base al número de enfermedades agudas, muertes y complicaciones secundarias alcanzó los 4,48 millones de dólares en el año 1995 (Withington y Chambers, 1995). En la UE se estima que hay aproximadamente nueve millones de casos de campilobacteriosis humana por año, suponiendo unos costes anuales de 2,4 billones de euros (EFSA Journal, 2011). Concretamente, en España se consideró que el coste en el año 2001 ascendió a más de 103 millones de euros con 231.817 casos diagnosticados (García y cols., 2006).

ETIOLOGÍA

Según la décima edición del *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* el género *Campylobacter* pertenece al reino bacteria, filo Proteobacteria, clase Epsilonproteobacteria (Garrity y cols., 2005), orden Campylobacteriales (Garrity y cols., 2003) y familia

Campylobacteraceae (Vandamme y cols, 2005). Actualmente, se reconocen veintidós especies incluidas dentro de este género: *C. fetus* (especie tipo), *C. hyointestinalis*, *C. lanienae*, *C. sputorum*, *C. mucosalis*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. showae*, *C. hominis*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. insulaenigrae*, *C. canadensis*, *C. upsaliensis* y *C. helveticus* (Debruyne y cols, 2008), sumándose *C. avium* (Rossi y cols., 2009) y *C. cuniculorum* (Zanoni y cols., 2009) en el año 2009, así como *C. ureolyticus* en el 2010 por la reclasificación de *Bacteroides ureolyticus* (Vandamme y cols., 2010) y *C. troglodytis* en el 2011 (Kaur y cols., 2011).

Así, las especies que constituyen este género son gram negativas, no sacarolíticas, con requerimientos de crecimiento microaeróbico, no forman esporas y tienen bajo contenido de guanina y citosina (entre el 29 y el 47% molar). Su morfología es curvada, en forma de S o espiral, aunque en algunas especies puede predominar la forma recta, con unas dimensiones entre 0,2 a 0,8 μm de ancho y 0,5 a 5 μm de largo (Debruyne y cols., 2008). Además, pueden mostrar forma esférica o cuerpos cocoides en cultivos no recientes, considerándose que son formas degenerativas más que un estado latente del organismo (Ikeda y Karlyshev, 2012). Son bacterias móviles que cuentan con un solo flagelo polar sin vaina en uno o ambos extremos, presentando un movimiento similar al realizado por un sacacorchos (Hendrixson y cols., 2001; Debruyne y cols., 2008; Yamamoto y cols., 2013), excepto las especies *C. gracilis* (Debruyne y cols., 2008) y *C. hominis* (Lawson y cols., 2001), no móviles y *C. showae* (Etoh y cols., 1993) que cuenta con múltiples flagelos. De esta forma, la motilidad mediada por los flagelos se reconoce como uno de los mayores factores que contribuyen a la virulencia de *Campylobacter* (Guerry, 2007).

Campylobacter crece bajo condiciones microaeróbicas si el hidrógeno, el formato o el succinato se añade como fuente de electrones (Debruyne y cols., 2008), pudiendo cultivarse en atmósferas con 3-15 por ciento de oxígeno, 2-10 por ciento de dióxido de carbono y 85 por ciento de nitrógeno (Forsythe, 2000; Garénaux y cols., 2008). No obstante, algunas especies crecen bajo condiciones anaeróbicas con el fumarato o el nitrato como aceptor de electrones (Debruyne y cols. 2008). Además, las especies de este género tienen un metabolismo respiratorio quimioorganotrofo, siendo capaces de obtener energía a partir de los aminoácidos o del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Debruyne y cols., 2008) y no a partir de los hidratos de carbono que no fermentan ni oxidan pues carecen de la enzima glucolítica fosfofructoquinasa (Dasti y cols., 2010). Tampoco hidrolizan el colágeno, la caseína, el almidón ni la tirosina (Debruyne y cols., 2008).

Su temperatura de crecimiento varía entre los 3 °C y 37 °C (Debruyne y cols. 2008), siendo la mayoría de las especies incapaces de crecer a menos de 30 °C debido a la ausencia de los genes que codifican las proteínas de choque térmico (Silva y cols., 2011). No obstante, hay especies denominadas “*termofilicas*”, como *C. jejuni* y *C. coli*, capaces de crecer entre 37 y 42 °C, con una temperatura óptima de 41,5 °C (Silva y cols., 2011), para las que se sugiere el nombre de “*termotolerantes*” por no presentar una verdadera termofilia pues no crecen a partir de 55 °C (Levin, 2007).

Estas características, junto con la necesidad de crecer en condiciones microaeróbicas, reducen la capacidad de estos organismos para multiplicarse fuera de su hospedador así como durante el procesado y almacenamiento en los alimentos (Park, 2002). Además, su crecimiento óptimo se produce con una actividad de agua (a_w) de 0,997 y con una concentración aproximada de cloruro sódico (NaCl) al 0,5% m/v, no siendo capaz de crecer en ambientes con a_w menor que 0,987 y concentraciones de NaCl mayores que 2% m/v. También, es incapaz de crecer con un pH menor a 4,9 y mayor de 9,0, encontrándose su pH óptimo entre 6,5 y 7,5 (Silva y cols., 2011).

Sus características bioquímicas son la reducción de fumarato a succinato, la reacción negativa del rojo de metilo y la producción de acetoina e indol; y para la mayoría de las especies, la reducción del nitrato, la presencia de la actividad de la oxidasa (excepto para *C. gracilis*) y la ausencia de la hidrólisis del hipurato (excepto para *C. jejuni*) y de la actividad lipasa y lecitinasa (Debruyne y cols., 2008). Así, en la tabla 1 se pueden observar las características fenotípicas y bioquímicas de las especies de *Campylobacter* de significado clínico (Lastovica y Allos, 2008).

En este momento, *C. jejuni* y *C. coli* son con diferencia las especies enteropatógenas más importantes en humanos, seguidas de *C. lari* y *C. upsaliensis* (EFSA Journal, 2012a). Además, *C. jejuni* es la causa más frecuente del síndrome de *Guillain-Barré*, trastorno neurológico autoinmune en el que el sistema inmunitario del cuerpo ataca a la mielina que recubre los nervios. Cuando esto sucede, los nervios no pueden enviar las señales de forma eficaz; el resultado es la incapacidad de sentir calor, dolor y otras sensaciones, además de paralizar progresivamente varios músculos del cuerpo (Nobuhiro y Hartung, 2012). Del mismo modo, en el tracto digestivo de los broilers *C. jejuni* y *C. coli* son las especies que se aíslan con mayor frecuencia, y en menor proporción *C. lari* (Di Giannatale y cols., 2010; Ansari-Lari y cols., 2011); mientras que en perros lo son *C. jejuni* y *C. upsaliensis* (Hald y cols., 2004).

Tabla 1. Características fenotípicas y bioquímicas de las especies de *Campylobacter* de significado clínico (Lastovica y Allos, 2008)

Especies o subespecies	Catalasa	Reducción de nitrato	Ariilsulfatasa	Pirazinamidasa	Hidrólisis del hipurato	Ácido nalidíxico	Cefalotina	Producción de H ₂ S		Crecimiento			Indoxil acetato	H ₂ requerido	Ureasa
								H ₂ S rápido	Acetato de plomo	TSI	25 °C	42 °C			
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> biotipo 1	+	+	—	+	+	(S)	R	—	++	—	—	+	+	—	—
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> biotipo 2	+	+	+	+	+	(S)	R	+	++	—	—	+	+	—	—
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	+	—	—	+	(+)	S	(S)	—	—	—	—	(+)	+	— ^a	—
<i>C. coli</i>	+	+	—	+	—	S	R	—	++	—	—	+	+	—	—
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	+	—	—	—	R	S	—	+	—	+	(—)	—	—	—
<i>C. upsaliensis</i>	(+)	+	—	+	—	S	S	—	(+)	—	—	(+)	+	— ^a	—
<i>C. lari</i>	+	+	—	+	—	R	R	+	+	—	(—)	+	—	— ^a	(—)
<i>C. hyointestinalis</i>	+	+	—	—	—	R	S	—	5+	3+	(+)	+	—	— ^a	—
<i>C. sputorum</i>	—	+	+	(+)	—	R	S	+	5+	3+	—	+	—	—	(—)
<i>C. concisus</i>	—	+	+	+	—	(R)	(S)	—	3+	(+)	—	(—)	(—)	+	—
<i>C. mucosalis</i>	—	+	—	—	—	R	S	—	5+	+	—	(—)	—	+	—
<i>C. curvus</i>	—	+	+	+	—	R	S	—	5+	+	—	+	+	+	—
<i>C. rectus</i>	—	+	+	+	—	(R)	S	—	3+	+	—	+	+	+	—
<i>C. showae</i>	+	+	+	ND	—	R	S	ND	ND	+	—	+	+	+	—
<i>C. gracilis</i>	—	+	ND	ND	—	S	R	ND	ND	+	ND	ND	ND	+	—

+, positivo; (+), la mayoría de las cepas positivas; —, negativo; (—), la mayoría de las cepas negativas; ND, no determinado; R, resistente; (R), la mayoría de las cepas resistentes; S, sensible; (S), la mayoría de las cepas sensibles.

^a Algunas cepas crecen mejor en condiciones microaerófilas con hidrógeno.

La especie *C. jejuni* se divide en dos subespecies: *C. jejuni* subsp. *jejuni* y *C. jejuni* subsp. *doylei*, esta última sin papel patógeno conocido. Además se aísla raramente, obteniéndose en su mayoría a partir de muestras clínicas de humanos con bacteriemia, sobre todo en niños (Debruyne y cols., 2008). La mayoría de las técnicas moleculares comunes en la identificación de microorganismos no son adecuadas para la identificación de estas subespecies, sugiriéndose el empleo a tal efecto de una PCR múltiple basada en el locus *nap* (Miller y cols., 2007). De igual modo, debido a las limitaciones para la diferenciación bioquímica entre las cepas de *C. coli* y *C. jejuni* subsp. *jejuni*, se han desarrollado métodos genotípicos que facilitan esta tarea (Sails y cols., 2001; Amri y cols., 2007).

Por otro lado, *C. lari* se ha aislado a partir de contenidos intestinales de gaviotas (Moore y cols., 2002) y otros animales como los broilers (Di Giannatale y cols., 2010) y el marisco (Endtz y cols., 1997), así como del agua del río (Van Dyke y cols., 2010). En humanos, se ha aislado a partir de heces diarreicas, casos de bacteriemia y otras infecciones extraintestinales (EFSA Journal, 2012a). Las cepas de la especie *C. lari* se incluyen en el grupo de las especies del género *Campylobacter* “termófilas” y fueron diferenciadas de *C. jejuni* y *C. coli* por su resistencia al ácido nalidíxico, su crecimiento en anaerobiosis con la presencia de clorhidrato de N-óxido de trimetilamina, y más tarde también por la ausencia de la hidrólisis del acetato de indoxil (Debruyne y cols., 2008). Sin embargo, se han identificado cepas sensibles al ácido nalidíxico y/o productoras de ureasa que complican esta diferenciación (Endtz y cols., 1997).

De la misma forma, las cepas de *C. upsaliensis* son organismos “termófilos” catalasa negativos o débilmente positivos (Debruyne y cols., 2008) y han sido aislados a partir de heces de humanos con gastroenteritis (Couturier y cols., 2012), así como de perros y gatos (Rahimi y cols., 2012). Además, se han descrito cepas de *C. upsaliensis* asociadas con abortos, abscesos mamarios, infección de prótesis de rodilla y el síndrome urémico-hemolítico en humanos (Debruyne y cols., 2008). Asimismo, hay estudios en todo el mundo que implican a *C. upsaliensis* como patógeno entérico en el hombre, y en algunas regiones es la especie de *Campylobacter* aislada con mayor frecuencia tras *C. jejuni* (Lindblom y cols., 1995; Bourke y cols., 1998).

Respecto al aislamiento de las especies de *Campylobacter*, no existe ningún protocolo sencillo para aislar de forma rutinaria todas ellas, siendo la mejor solución metodológica la aplicación simultánea de una atmósfera microaeróbica con hidrógeno, un método de filtración y un medio selectivo (Debruyne y cols., 2008). Sin embargo, las especies predominantes

implicadas en las infecciones humanas pueden crecer en atmósfera microaeróbica y en medio selectivo sin la necesidad de usar hidrógeno (Baylis y cols., 2000; Silva y cols., 2011).

En los últimos años se han desarrollado distintos métodos más o menos rápidos para la detección y confirmación de *Campylobacter*, tales como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) (Lehtola y cols., 2006), la aglutinación en látex (Wilma y cols., 1992) o los métodos físicos de enriquecimiento (filtración) (Baggerman y Koster, 1992). Si bien, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método más eficaz para la confirmación de los resultados (Silva y cols., 2011).

EPIDEMIOLOGÍA

Distribución geográfica y reservorios

La campilobacteriosis humana representa actualmente la zoonosis más importante a nivel mundial (WHO, 2011) y aunque su incidencia está aumentando en todo el mundo, aún es necesaria más información sobre su prevalencia en los países en vías de desarrollo (Coker y cols., 2002).

La presencia de *Campylobacter* como comensal del tracto digestivo de los animales está muy extendida en todo el mundo, encontrándose incluso en pingüinos de lugares tan aislados como la Antártida (Griekspoor y cols., 2009). En Europa, la presencia de *Campylobacter* en broilers se ha constatado en Suecia (Hansson y cols., 2010), Alemania (Näther y cols., 2009), Gran Bretaña (Ellis-Iversen y cols., 2009), Noruega (Lyngstad y cols., 2008) o Italia (Di Giannatale y cols., 2010); a partir de perros domésticos en Reino Unido (Parsons y cols., 2009), Dinamarca (Hald y cols., 2004) o Suiza (Wieland y cols., 2005) y en otros animales como en cerdos (Payot y cols., 2004) o ganado bovino (Châtre y cols., 2010) en Francia y ovejas en Escocia (García y cols., 2010), entre otros.

Del mismo modo, en África, donde la mayor parte de los países se encuentran en vías de desarrollo, se ha aislado *Campylobacter* en distintas regiones como Kenia, donde se han observado en animales de producción como cerdos, pollos, cabras, ganado vacuno, ovejas y patos, así como en perros domésticos (Turkson y cols., 1988); Etiopía, donde se encontró en pollos y cerdos (Kassa y cols., 2007); en ovejas en Nigeria (Raji y cols., 2000) o en broilers y gallinas ponedoras en el sur del continente (Bester y Essack, 2008).

Por otro lado, en el sureste de Asia se ha encontrado *Campylobacter* en aves domésticas en Tailandia (Boonmar y cols. 2005), así como en broilers (Saleha, 2002), patos (Adzitey y cols., 2012) y aves silvestres (Ganapathy y cols., 2007) en Malasia. En países de Oriente Medio, se aisló en aves domésticas, vacas, caballos y camellos en Irán (Baserisalehi y cols., 2007) o en pollos en Jordania (Osaili y cols., 2012). Además, en Asia oriental, se obtuvieron aislamientos a partir de broilers en China y Japón (Chuma y cols., 2001; Chen y cols., 2010) y en ganado bovino (Giacoboni y cols. 1993), perros y gatos en Japón (Misawa y cols., 2001).

En Oceanía se ha aislado *Campylobacter* en distintas especies animales en Australia como perros y gatos (Baker y cols., 1999) o ganado bovino y ovejas (Bailey y cols., 2003), y en aves domésticas (Bates y cols., 2004) y terneros en Nueva Zelanda (Grinberg y cols., 2005).

Por último, se ha encontrado *Campylobacter* en los animales ubicados en América del Sur, como perros, gatos (Tamborini y cols., 2012), gallinas y pollos en Argentina (Notario y cols., 2011); en América Central a partir de cerdos en San Salvador (Pinochet y cols., 1988) o en América del Norte en pavos localizados en Estados Unidos (Olah y cols., 2004).

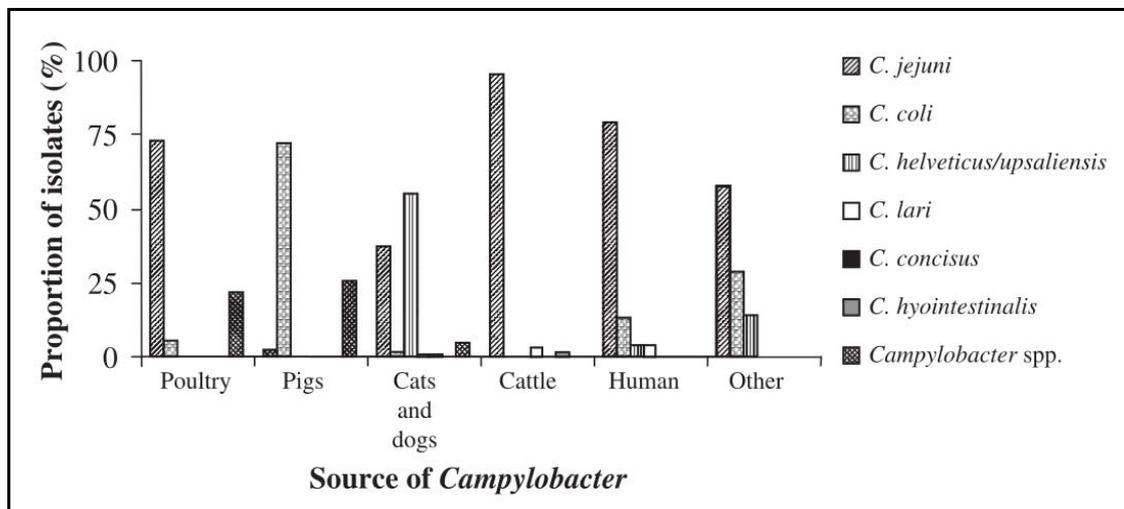
Para obtener una visión esquemática de la enorme difusión de *Campylobacter* como habitante del tracto intestinal en los animales, en la tabla 2 se muestra la distribución mundial de esta bacteria en diferentes hospedadores.

Tabla 2. Reservorios de *Campylobacter* spp. en diferentes estudios a nivel mundial

Continentes	Región	Broilers/ gallinas ponedoras	Perros/ gatos	Cerdos	Bovinos	Peq rumiantes	Pavos	Caballos	Camellos	Pingüinos	Aves silvestres	Autores
Antártida	Georgia del Sur									+		<i>Griekspoor y cols., 2009</i>
Europa	Alemania	+										<i>Näther y cols. 2009</i>
	Dinamarca		+									<i>Hald y cols., 2004</i>
	Francia			+	+							<i>Payot y cols., 2004</i> <i>Châtre y cols., 2010</i>
	Italia	+										<i>Di Giannatale y cols., 2010</i>
	Noruega	+										<i>Lyngstad y cols., 2008</i>
	Reino Unido	+	+			+						<i>Ellis-Iversen y cols., 2009</i> <i>Parsons y cols., 2009</i> <i>García y cols., 2010</i>
	Suecia	+										<i>Hansson y cols., 2010</i>
	Suiza		+									<i>Wieland y cols., 2005</i>
África	Kenia	+	+	+	+	+					+	<i>Turkson y cols., 1988</i>
	Etiopía	+		+								<i>Kassa y cols., 2007</i>
	Nigeria					+						<i>Raji y cols., 2000</i>
	África del Sur	+										<i>Bester y Essack, 2008</i>
Asia	Tailandia	+										<i>Boonmar y cols., 2005</i>
	Malasia	+									+	<i>Saleha, 2002</i> <i>Adzitey y cols., 2012</i>
	Irán	+			+			+	+			<i>Baserisalehi y cols., 2007</i>
	China	+										<i>Chen y cols., 2010</i>
	Japón	+	+		+							<i>Giacoboni y cols., 1993</i> <i>Chuma y cols., 2001</i> <i>Misawa y cols., 2001</i>
Oceanía	Australia		+		+	+						<i>Baker y cols., 1999</i> <i>Bailey y cols., 2003</i>
	Nueva Zelanda	+			+							<i>Bates y cols., 2004</i> <i>Grinberg y cols., 2005</i>
Ámerica	América del Norte						+					<i>Olah y cols., 2004</i>
	América Central			+								<i>Pinochet y cols., 1988</i>
	América del Sur	+	+									<i>Notario y cols., 2011</i> <i>Tamborini y cols., 2012</i>

El reservorio principal de *Campylobacter* lo constituyen las aves domésticas y silvestres así como vacas, cerdos, ovejas, perros y gatos quienes albergan al microorganismo en el tracto digestivo (EFSA Journal, 2012a). Estos reservorios se comportan como portadores asintomáticos, presentando la enfermedad clínica en raras ocasiones (OIE, 2008). Además, en cada uno de los reservorios predominan unas especies determinadas de *Campylobacter*, siendo *C. jejuni* y *C. coli* las especies aisladas con mayor frecuencia en broilers (Ansari-Lari y cols., 2011, Henry y cols., 2011); mientras que *C. jejuni* y *C. upsaliensis* lo son en perros (Hald y cols., 2004). En la figura 3 se muestran las principales especies de *Campylobacter* aisladas en distintos reservorios, siendo *C. jejuni* la más difundida (Keller y cols., 2007).

Figura 3. Distribución de las especies de *Campylobacter* en diferentes reservorios



Fuente: Keller y cols., 2007

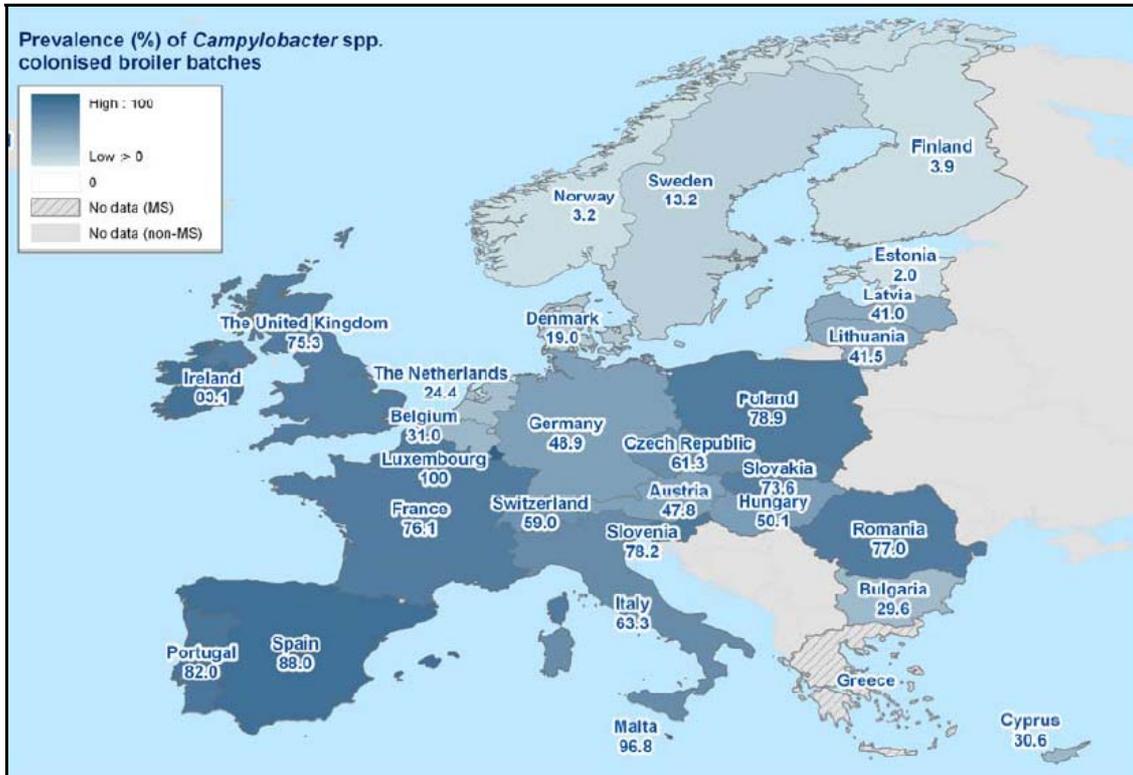
Los roedores (Meerburg y Kijlstra, 2007) y los insectos, como moscas (Choo y cols., 2011) o escarabajos (Hazeleger y cols., 2008), así como los mamíferos salvajes (Lillehaug y cols. 2005) y los reptiles (Dingle y cols. 2010) también pueden actuar como reservorios. Del mismo modo, el agua subterránea, de la lluvia y de los ríos (Savill y cols., 2001), incluso las amebas (Axelsson-Olsson y cols., 2005) puede suponer importantes reservorios de *Campylobacter* en el medio ambiente.

Indicadores epidemiológicos y de salud

El porcentaje medio de lotes de broilers positivos a *Campylobacter* en la UE fue de 75,8 por ciento en el año 2008, con una variación entre los distintos países entre el dos y el cien por cien de lotes infectados, encontrándose España entre aquellos con un mayor porcentaje de lotes positivos (88%), sólo por detrás de Malta y Luxemburgo (96,8% y 100%,

respectivamente) (Fig. 4) (EFSA Journal, 2010). Por el contrario, los niveles más bajos de infección (menos del 6%) se han observado en Estonia, Finlandia y Noruega (EFSA Journal, 2012a). Respecto a las especies de *Campylobacter* aisladas, *C. jejuni* es la más común, seguida de *C. coli* y *C. lari* (Keller y cols., 2007; EFSA Journal, 2012a).

Figura 4. Prevalencia de *Campylobacter* spp. en lotes de broilers de la UE en 2008



Fuente: EFSA Journal, 2011

Si atendemos a las canales de pollo, en el año 2008 la prevalencia de *Campylobacter* en la UE fue del 75,8 por ciento (oscilando entre 4,9% y 100%) (EFSA Journal, 2010). Sin embargo, el porcentaje medio de carne de pollo fresca en la UE contaminada con *Campylobacter* en el año 2010 fue de 29,6 por ciento, mucho menor que la encontrada en las canales, variando desde un 3,1 hasta un 90 por ciento (EFSA Journal, 2012a). En lo referente a las especies de *Campylobacter*, como ocurre en los lotes de broilers, *C. jejuni* se aísla con mayor frecuencia, seguida de *C. coli* y *C. lari* (EFSA Journal, 2010; EFSA Journal, 2012a).

De acuerdo con la alta proporción de canales de pollo contaminadas con *Campylobacter* en la UE, España es uno de los países con mayor proporción de canales contaminadas con esta bacteria (92,6%) (EFSA Journal, 2010), así como de carne de pollo fresca (tabla 3) (EFSA Journal, 2012a).

Tabla 3. *Campylobacter* en carne de pollo fresca en España, 2008-2010

Origen	2010		2009		2008	
	N	% positivos	N	% positivos	N	% positivos
Mataderos	139	44,6	72	95,8	420	86,2
Plantas de procesado	178	74,7	99	70,7	50	58,0
Comercios	126	25,4	273	49,5	165	13,3

Fuente: EFSA Journal, 2012a

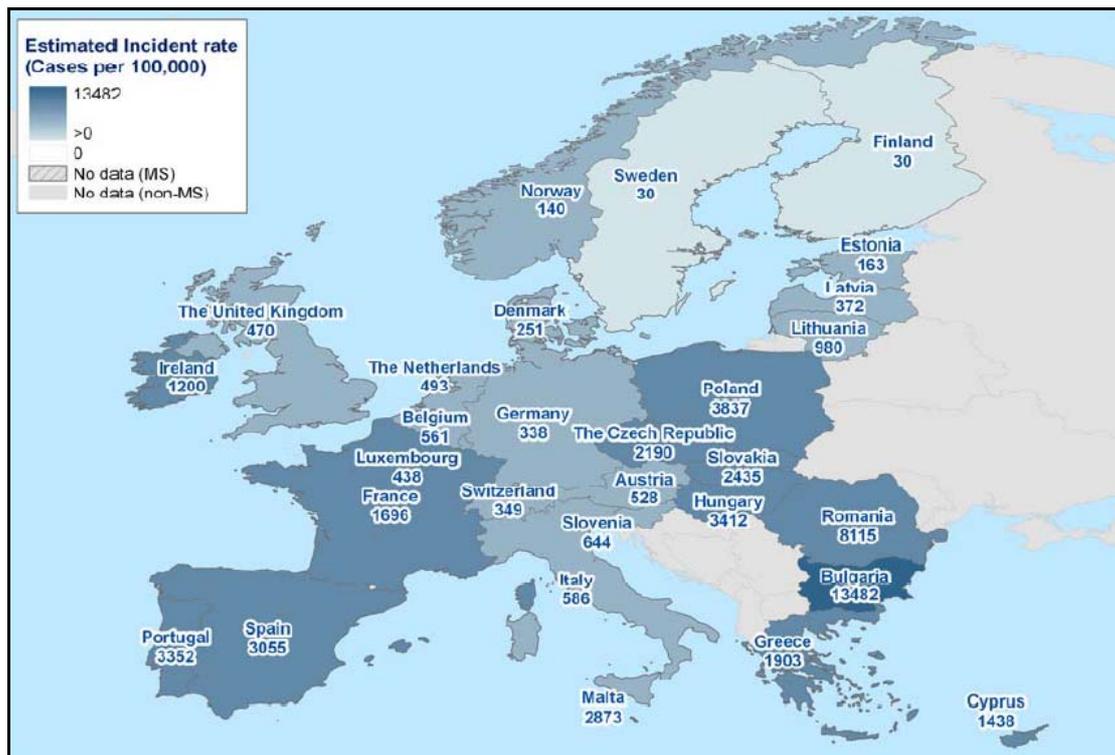
Por otra parte, más del cincuenta por ciento de los perros domésticos pueden estar infectados con *Campylobacter* (Hald y cols., 2004), siendo *C. jejuni*, *C. upsaliensis* y *C. coli* las especies más frecuentes en estos animales (EFSA Journal, 2012a).

En cuanto a la campilobacteriosis humana, ya desde el año 2005 *Campylobacter* ha sido la primera causa de zoonosis en la mayoría de los países del continente europeo (EFSA Journal, 2012a). Así, el número de personas afectadas ha seguido aumentando de forma significativa hasta alcanzar los 220.209 casos confirmados en 2011 (EFSA Journal, 2013), siendo los niños menores de cinco años los que concentran el mayor número de casos (126,8 por 100.000 habitantes) (EFSA Journal, 2012a). Si lo analizamos por países encontramos tasas de incidencia por cada 100.000 habitantes que varían entre los 221 casos en Malta y los 18.372 de la República Checa (OIE, 2013). En la figura 5 se muestra la tasa de incidencia real estimada de la campilobacteriosis humana en la UE (EFSA Journal, 2011).

En el resto del mundo, la campilobacteriosis fue también la zoonosis con mayor número de casos en países como Nueva Zelanda (7.033), Australia (17.723), Israel (4.866) (OIE, 2013) o Estados Unidos (2,4 millones de casos al año) (Mead y cols., 1999).

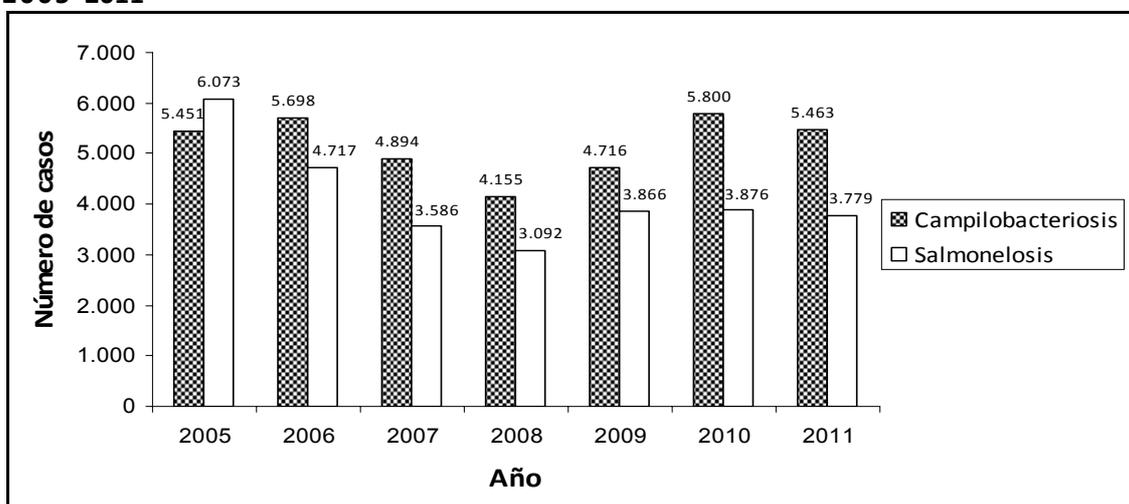
Concretamente en España, la campilobacteriosis fue la zoonosis más relevante con 5.463 casos en el año 2011, seguida de la salmonelosis con 3.779 casos y la leishmaniosis con 232 casos (OIE, 2013). Así, en la figura 6 se puede observar el número de casos de campilobacteriosis en comparación con el número de casos de salmonelosis en humanos desde el año 2005 hasta el año 2011 en nuestro país (OIE, 2013).

Figura 5. Tasa de incidencia real estimada de la campilobacteriosis humana en la UE



Fuente: EFSA Journal, 2011

Figura 6. Número de casos de campilobacteriosis y salmonelosis humana en España, 2005-2011



Fuente: OIE, 2013

No obstante, la tasa de letalidad de esta zoonosis es baja (0,22%) siendo causante de la muerte de 266 personas en la UE durante el año 2010 (EFSA Journal, 2012a). Asimismo, a pesar de que *Campylobacter* causa el mayor número de casos de gastroenteritis en humanos, solamente es responsable del 8,9 por ciento de los casos de brotes de origen

alimentario, precedido tanto de *Salmonella* (30,5%) como de los agentes víricos (15,0%) (EFSA Journal, 2012a).

De esta forma, la especie de *Campylobacter* asociada con mayor frecuencia con la campilobacteriosis humana en la UE fue *C. jejuni* (35,7%), con el 93,4 por ciento de los casos confirmados a nivel de especie, seguida por *C. coli* (2,3%), *C. lari* (0,22%) y *C. upsaliensis* (0.006%), aunque otras especies también pueden estar implicadas (EFSA Journal, 2012a).

Factores de riesgo relacionados con el hospedador

A continuación se describen aquellos factores de riesgo asociados a la infección en las especies en estudio y en el hombre.

Respecto a los factores de riesgo relacionados con los broilers, el más importante sin duda es la edad. Así, encontramos numerosos estudios que relacionan el riesgo de infección con el aumento de la edad de estos animales (Barrios y cols., 2006, Arsenault y cols., 2007a), aumentando de forma significativa en los broilers de entre 29 y 35 días de edad, y más aún en los animales de entre 36 y 42 días en comparación con los broilers de entre 22 y 28 días de edad (Bouwknegt y cols., 2004). El estudio de Ansari-Lari y cols. (2011) indican la existencia de un riesgo de infección cinco veces mayor cuando la edad de los broilers es mayor o igual a 45 días.

En cuanto a la raza y el sexo de estos animales, son pocos los autores que han encontrado relación entre estos factores y la infección con *Campylobacter*, siendo la mayoría los que apuntan que no tienen efecto sobre la prevalencia de *Campylobacter* en los lotes de broilers (Adkin y cols., 2006).

Por otra parte, la mayor parte de los estudios no han encontrado un aumento del riesgo de infección con *Campylobacter* en lotes de broilers con alguna enfermedad previa (Adkin y cols., 2006); si bien, Bull y cols., (2008) describen una asociación entre los lotes positivos a *Campylobacter* y la presencia de dermatitis digital u otra enfermedad en los broilers, observando además, tasas mayores de prevalencia intrarrebaño (70%-100%). Estos resultados indican como mejorando la salud de los broilers se podría reducir la infección por *Campylobacter*.

Del mismo modo que en los broilers, numerosos estudios han descrito la edad como el factor de riesgo más importante para que un perro esté infectado con *Campylobacter*,

presentando los perros jóvenes un mayor riesgo de infección (Torre y Tello, 1993; Sandberg y cols., 2002; Engvall y cols., 2003; Guest y cols., 2007; Acke y cols., 2009b; Westgarth y cols., 2009; Parsons y cols., 2009). Así, encontramos estudios que describen un mayor aislamiento de cepas de *Campylobacter* en perros menores de seis meses de edad (Torre y Tello, 1993; Acke y cols., 2009b), ó menores de un año (Sandberg y cols., 2002; Engvall y cols., 2003; Hald y cols., 2004). Además también se han descrito diferencias entre las especies de *Campylobacter*, teniendo mayor riesgo de estar infectados con *C. upsaliensis* los perros menores de tres años, mientras que para *C. jejuni* la edad no parece ser factor de riesgo (Wieland y cols., 2005).

Respecto a la raza, la mayoría de los autores no encuentran relación entre este factor y la infección con *Campylobacter* en perros (Wieland y cols., 2005; Parsons y cols., 2009), en contraste Westgarth y cols. (2009) encontraron un aumento significativo de aislamientos de *Campylobacter* en razas de tamaño pequeño.

Por otra parte, no se han encontrado diferencias entre el sexo del animal y la infección con *Campylobacter* (Workman y cols., 2005; Tsai y cols., 2007), aunque Hald y cols. (2004) observaron mayor número de machos infectados que de hembras.

Finalmente, el factor más controvertido es la asociación o no de una mayor prevalencia de *Campylobacter* en perros con diarrea existiendo autores que no han encontrado diferencias significativas entre los perros con diarrea y sanos (Sandberg y cols., 2002; Rossi y cols., 2008; Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011) y autores que han aislado con mayor frecuencia *Campylobacter* en perros con diarrea (Acke y cols., 2009b; Chaban y cols., 2010), señalando que esto hecho solo era cierto en los perros más jóvenes (Burnens y cols., 1992). En este sentido, se han establecido también relaciones entre los perros con parvovirus y *Campylobacter*, afectando esta coinfección a la gravedad y al pronóstico de la enfermedad (Workman y cols., 2005).

En el hombre, la edad también es un importante factor de riesgo, apareciendo durante la infancia y de nuevo en la edad adulta temprana un mayor número de casos de campilobacteriosis (Acheson y Allos, 2001; Green y cols., 2006). No obstante, hay estudios que describen que esta enfermedad es más frecuente solo en niños (Tenkate y Stafford, 2001; EFSA Journal, 2012a), existiendo la posibilidad de que los factores de riesgo puedan ser diferentes para cada grupo de edad específico (Unicomb y cols., 2005).

Respecto al sexo, no se ha encontrado que sea un factor de riesgo (Gillespie y cols., 2002), aunque algunos estudios señalen que la campilobacteriosis fue más frecuente en hombres que en mujeres (Green y cols., 2006).

Por último, padecer alguna enfermedad también puede suponer un factor de riesgo para los humanos. De esta forma, se asocia un mayor riesgo de campilobacteriosis en pacientes con SIDA (Robinson y Pugh, 2002), diabetes mellitus (Neal y Slack, 1997), úlcera péptica, hernia de hiato o problemas intestinales inferiores (Danis y cols., 2009).

Factores de riesgo relacionados con el manejo y medio ambiente

Al igual que en el punto anterior, se exponen los factores de riesgo relacionados con el manejo y medio ambiente en broilers, perros y humanos.

Son numerosos los estudios sobre los factores de riesgo y la infección con *Campylobacter* en granjas de broilers que demuestran que existen una gran variedad de ellos relacionados tanto con el manejo como con el medio ambiente. Entre ellos, uno de los más importantes, es la falta de barreras higiénicas (Hald y cols., 2000; Hansson y cols., 2010; Henry y cols., 2011; Adkin y cols., 2006). Así, se ha demostrado como el hecho de que el personal de la granja no lleve puesta su ropa de trabajo exclusivamente en la nave supone un aumento del riesgo (Cardinale y cols., 2004), de igual forma se ha observado que existe un riesgo mayor si el vacío sanitario de la nave es menor que 14 días (Hald y cols., 2000). En contraste, la aplicación de medidas específicas de higiene durante el período de cría, tales como lavarse las manos antes de entrar en la nave (Van de Giessen, 1996), eliminar el estiércol fuera de la granja (Cardinale y cols., 2004), usar desinfectante en la limpieza haciéndola en profundidad en los alrededores de la granja (Cardinale y cols., 2004; Henry y cols., 2011) y en las instalaciones del agua (Evans y Sayers, 2004), cambiarse de calzado para entrar en cada nave (Van de Giessen y cols., 1996; Hansson y cols., 2010), así como el uso apropiado de pediluvios desinfectantes (Van de Giessen y cols., 1996; Evans y Sayers, 2004) se ha asociado con una disminución del riesgo de infección.

Asimismo, la mayoría de los estudios indican que la práctica de la despoblación parcial en los broilers de una granja supone un importante factor de riesgo de forma que disminuye si la despoblación parcial en la granja no se realiza nunca o en raras ocasiones (Hald y cols., 2000; Adkin y cols., 2006; Hansson y cols., 2010).

Otros factores como el suministro de agua procedente de una fuente privada (Jonsson y cols., 2012) o no tratada (Kapperud y cols., 1993; Haruna y cols., 2011; Sasaki y cols., 2011) así como la acidificación del agua (Refrégier-Petton y cols., 2001) o el uso de bebederos de tetina se han asociado con un riesgo para la infección de los lotes (Näther y cols., 2009).

La ventilación también se ha señalado como un factor asociado con esta infección en los broilers, observándose un incremento del riesgo de infección en los lotes ubicados en naves con distribución de aire estático (Refrégier-Petton y cols., 2001); en naves con un sistema de ventilación vertical (Barrios y cols., 2006) encontraron un aumento del riesgo, así como en naves con ventilación mixta: vertical y horizontal (Guerin y cols., 2007).

También se ha descrito como la administración de un tratamiento antibiótico después de una enfermedad (Refrégier-Petton y cols. 2001) o el uso de antibióticos en la etapa temprana del período de producción disminuyen el riesgo de infección con *Campylobacter* (Ansari-Lari y cols., 2011).

En lo referente a la alimentación, se ha observado como el uso de las cajas que transportan los pollitos desde la incubadora a la granja como bandejas para alimentarlos, en lugar de bandejas diseñadas específicamente para esto supone un factor de riesgo (Cardinale y cols., 2004). Asimismo, también aumenta el riesgo de infección alimentar a los broilers con trigo comprado en lugar de con trigo de cosecha propia (Hald y cols., 2000).

Finalmente, en cuanto al personal que trabaja en la granja, se ha asociado con un aumento del riesgo de infección tanto la presencia de dos o más personas al cuidado del lote de broilers (Refrégier-Petton y cols. 2001), como haber estado trabajando con otras aves domésticas o con cerdos antes de entrar a la nave de broilers (Kapperud y cols., 1993). Además, hay autores que apuntan que la empresa a la que pertenece la granja de broilers supone también un factor de riesgo a tener en cuenta (Adkin y cols., 2006).

Respecto a los factores relacionados con el medio ambiente en los broilers, se ha descrito que la época del año es uno de los más importantes (Adkin y cols., 2006) siendo el verano y el otoño los momentos donde se presenta un mayor riesgo de infección (Refrégier-Petton y cols., 2001; Bouwknecht y cols., 2004; Jorgensen y cols., 2011), si bien autores como Kapperud y cols. (1993) realizan esta asociación solamente para la estación de otoño.

Además, la región geográfica (Kapperud y cols., 1993; Jorgensen y cols., 2011; Sasaki y cols., 2011; Jonsson y cols., 2012), el año (Jonsson y cols. 2012) y las características climatológicas tales como una mayor temperatura media diaria o la caída de lluvias torrenciales 11-30 días antes del sacrificio se han descrito como factores de riesgo para la infección con *Campylobacter* (Jonsson y cols., 2012).

Asimismo se ha apuntado que la presencia de otros animales en la granja de broilers es un factor de riesgo de importancia (Bouwknegt y cols., 2004; Cardinale y cols., 2004; Hansson y cols., 2010). Así, se ha descrito como la presencia en la granja de cerdos (Van de Giessen, 1996), ganado bovino, ovejas y otras aves domésticas suponen un factor de riesgo para que los broilers se infecten con *Campylobacter* (Cardinale y cols., 2004), aún más en ausencia de barreras higiénicas (Hald y cols., 2000). La presencia de escarabajos (Refrégier-Petton y cols., 2001), así como de un gran número de moscas en una nave con broilers (Hald y cols., 2008) suponen también factores de riesgo, habiéndose descrito que estos insectos pueden actuar como reservorios de *Campylobacter* (Choo y cols., 2011). También la presencia de ganado bovino, cerdos, aves domésticas o animales de peletería dentro de un kilómetro de la granja de broilers puede suponer un aumento del riesgo de infección (Bouwknegt y cols., 2004; Hald y cols. 2000; Hansson y cols., 2010; Henry y cols., 2011).

La densidad de animales en una granja es un factor que incrementa el riesgo tanto por un mayor número de animales en un lote (Barrios y cols., 2006; Näther y cols. 2009), como por el aumento del número de broilers criados al año en una granja (Arsenault y cols., 2007a). Asimismo, se ha descrito una mayor prevalencia de *Campylobacter* en lotes de granjas al aire libre y granjas orgánicas (Näther y cols. 2009).

Respecto a las naves en las que se crían los broilers, la presencia de mayor número de naves en una granja se ha asociado con el aumento del riesgo de infección. Así, la granjas con varias naves (Henry y cols., 2011), con tres o más naves (Refrégier-Petton y cols., 2001) o con cinco o más naves (Bouwknegt y cols., 2004), presentan un mayor riesgo de infección con *Campylobacter*. Además, otro factor de riesgo asociado a la infección es la presencia de suelo sin cementar (Cardinale y cols., 2004), describiéndose una disminución del riesgo si las naves se encuentran en buen estado de reparación (Evans y Sayers, 2000). Por último, se ha observado como a medida que el nivel de educación del propietario de la granja de broilers aumenta, disminuye el riesgo de infección con *Campylobacter* (Ansari-Lari y cols., 2011).

Entre los factores asociados con el manejo del perro, la dieta proporcionada supone un aumento del riesgo de infección si está constituida de comida cocinada casera o si ésta se añade a su alimentación (Leonard y cols., 2011), así como de carne cruda (Lenz y cols., 2009) o golosinas comerciales para perros y/o humanos (Westgarth y cols., 2009). Por otra parte, existe un mayor riesgo de infección con *Campylobacter* si los perros no han sido tratados con antibióticos en el mes anterior a la recogida de muestras (Leonard y cols., 2011).

Respecto a los factores de riesgo asociados con el medio ambiente, Damborg y cols. (2004) señalaron que *Campylobacter* fue aislado con mayor frecuencia en perros domésticos que vivían con personas menores de 17 años que en los que vivían con personas mayores. Sin embargo, otros autores encontraron lo contrario señalando como la ausencia de niños en el hogar aumenta el riesgo de infección. Además, el hecho de que un miembro del hogar tenga contacto con gatos u otros animales de compañía también ha sido descrito como un factor de riesgo (Leonard y cols., 2011).

Por otra parte, los perros de las ciudades están infectados con *Campylobacter* con más frecuencia que los perros que viven en áreas rurales (Halds y cols., 2004). Además, se ha descrito que los perros callejeros que fueron adoptados han presentado una mayor prevalencia de *Campylobacter* que los perros domésticos (Workman y cols., 2005; Tsai y cols., 2007).

Asimismo, se ha observado que si un perro tiene contacto con otros perros (Buogo y cols., 1995; Baker y cols., 1999; Damborg y cols., 2004; Westgarth y cols., 2009) o convive con una alta densidad de población canina durante largos períodos de tiempo (Torre y Tello, 1993) hay un aumento del riesgo de infección con *Campylobacter*. De igual manera, se ha demostrado que los perros que tienen un contacto habitual con pájaros y aves domésticas tienen más probabilidad de estar infectados con esta bacteria (Wieland y cols., 2005).

En último lugar, la influencia de la época del año en la infección con *Campylobacter* en perros difiere entre los diferentes autores. Así, Sandberg y cols. (2002) encontraron que la primavera supone un factor de riesgo, mientras que Torre y Tello (1993) observaron una mayor prevalencia de *Campylobacter* durante el otoño. Por el contrario, otros estudios no encontraron relación entre la época del año y la infección con *Campylobacter* en perros (Hald y cols., 2004).

En el hombre sin embargo, el principal factor de riesgo encontrado por numerosos estudios es el consumo de carne de pollo (Neal y Slack, 1997; Studahl y Andersson, 2000; Acheson y Allos, 2001; Rodrigues y cols., 2001; Evans y cols., 2003; Kapperud y cols., 2003; Neimann y cols., 2003; Friedman y cols., 2004; Kassenborg y cols., 2004; Wingstrand y cols., 2006; Danis y cols., 2009), especificando que hay un incremento del riesgo si la carne de pollo que se consume es fresca y sin congelar (Wingstrand y cols., 2006), está cocinada de forma insuficiente (Kapperud y cols., 2003; Neimann y cols., 2003) o si el pollo fue preparado en un restaurante (Rodrigues y cols., 2001; Friedman y cols., 2004).

No obstante, Kapperud y cols. (2003) encontraron que es más probable que la infección se produzca como resultado de la contaminación cruzada a partir de productos avícolas crudos que debido al consumo de aves domésticas por sí mismo. Por otra parte, el consumo de carne de pollo de forma regular disminuye el riesgo de padecer la enfermedad respecto a aquellas que no lo hacen, sugiriendo que el consumo de pollo de forma habitual puede dar lugar al desarrollo de una respuesta inmune parcial (Tam y cols., 2009). Además, aunque en menor medida, el consumo de otras carnes mal cocinadas (Schönberg-Norio y cols., 2004, Doorduyn y cols., 2010) o preparadas en restaurantes (Friedman y cols., 2004; Unicomb y cols., 2008) como el pavo (Kassenborg y cols., 2004), el cerdo (Studahl y Andersson, 2000; Kapperud y cols., 2003, Neimaan y cols., 2003) o la res (Unicomb y cols., 2008) se ha asociado con un aumento del riesgo de infección. Al mismo tiempo, se ha observado como el consumo de carne cocinada a la barbacoa o el consumo de comida rápida dos o más veces a la semana supone un factor de riesgo (Studahl y Andersson, 2000; Kapperud y cols., 2003; Neimann y cols., 2003; Unicomb y cols., 2008; Doorduyn y cols., 2010). Por el contrario, el consumo de cordero y frutas se asocia con un menor riesgo de infección (Kapperud y cols., 2003), aunque se ha señalado que el consumo de uvas (Neimann y cols., 2003), y el consumo de verduras (Evans y cols., 2003; Danis y cols., 2009) aumenta el riesgo.

Por otro lado, se ha observado como beber leche sin pasteurizar (Studahl y Andersson, 2000; Neimann y cols., 2003) o de botellas con tapones dañados por pájaros (Neal y Slack, 1997) así como beber agua no tratada son también factores de riesgo (Kapperud y cols., 2003; Schönberg-Norio y cols., 2004).

Además, el contacto directo con animales domésticos como pollos y gallinas (Studahl y Andersson, 2000; Acheson y Allos, 2001; Potter y cols., 2003), vacas y terneros (Evans y cols., 2003), ovejas (Danis y cols., 2009), perros y gatos (Neimann y cols., 2003) implica un aumento

del riesgo de infección. Concretamente, se ha observado como el hecho de que los niños menores de tres años convivan con cachorros o pollos como mascotas (Tenkate y Stafford, 2001), así como la adquisición reciente de un perro, suponen un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* (Tam y cols., 2009). Asimismo, Green y cols. (2006) encontraron que las zonas geográficas con mayor densidad de animales correspondían con las que presentaban mayor incidencia de campilobacteriosis humana.

También se han descrito factores de riesgo asociados al ocio tales como bañarse en fuentes naturales de agua (Schönberg-Norio y cols., 2004), la natación (Unicomb y cols., 2008) o los viajes al extranjero (Neal y Slack, 1997; Neimann y cols., 2009; Rodrigues y cols., 2001; Kassenborg y cols., 2004; Unicomb y cols., 2008).

Respecto a los tratamientos médicos, las personas que se medican con omeprazol, H₂ y antagonistas H₂ (Neal y Slack, 1997), inhibidores de la bomba de protones (Doorduyn y cols., 2010) o ácido supresores presentan mayor riesgo de infección con *Campylobacter* (Tam y cols., 2009).

Por último, cabe destacar la tendencia estacional de la campilobacteriosis en humanos, con mayor número de casos en verano y otoño (Green y cols., 2006). Así, en la UE se refleja esta tendencia durante los meses de verano desde junio a agosto y gradualmente va decreciendo desde septiembre hasta diciembre (EFSA Journal, 2012a). Además, se ha descrito como las personas que viven en zonas rurales (Green y cols., 2006; Bessell y cols., 2010) y las personas más necesitadas son los grupos que presentan mayor riesgo de infección (Olowokure y cols., 1999; Simonsen y cols., 2008; Bessell y cols., 2010).

Factores de riesgo relacionados con el agente

El mayor desafío para *Campylobacter*, que debe ser capaz de sobrevivir en el tracto intestinal de los animales y los humanos y causar infección, es su supervivencia en el medio ambiente pues se expone a temperaturas por debajo de su temperatura mínima de crecimiento, así como al oxígeno, la desecación y otros factores de estrés ambiental (Park, 2002).

A diferencia de otros patógenos transmitidos por los alimentos, *Campylobacter* es aparentemente frágil, incapaz de crecer en presencia del aire ni de multiplicarse fuera del hospedador, además de altamente susceptible a una serie de condiciones ambientales (Park,

2002). A pesar de estas dificultades, *Campylobacter* ha logrado ser la primera causa de enfermedad transmitida por los alimentos en los seres humanos (WHO, 2011).

Así, estos organismos son sensibles a la desecación (Moriarty y cols., 2011), a los procesos de calentamiento como la cocción y la pasteurización (WHO, 2011), a la irradiación (Kudra y cols., 2012) y a las condiciones ácidas (Chaveerach y cols., 2003). Además, se ha comprobado que aunque *Campylobacter* puede sobrevivir a temperaturas de refrigeración y congelación, el número y la viabilidad de las unidades formadoras de colonias (UFC) disminuyen de forma notable (Bhaduri y Cottrell, 2004; El-Shibiny y cols., 2009a).

Igualmente, *Campylobacter* es sensible a la mayoría de los desinfectantes como el alcohol etílico, la formalina (10%) y los compuestos yodóforos y de amonio cuaternario (Wang y cols., 1983), sugiriéndose un tiempo de exposición mayor de cinco minutos para asegurar su efectividad (Avrain y cols., 2003b). De esta forma, es posible la eliminación de *Campylobacter* del agua mediante un método de cloración estándar cuando es de baja turbidez (WHO, 1996; Ford, 1999). No obstante, la interacción con los protozoos del agua tales como *Acanthamoeba castellanii* y *Tetrahymena pyriformis*, que actúan como reservorios protectores para *Campylobacter* en los sistemas de agua potable, puede hacer que los desinfectantes como el cloro sean menos efectivos (King y cols., 1988, Snelling y cols., 2005), hecho que podría explicar que la cloración del agua potable suministrada a los broilers no evite que se infecten con *Campylobacter* (Stern y cols., 2002).

Como mecanismo de defensa en el medio ambiente, en condiciones desfavorables tales como la falta de nutrientes en ambientes acuosos o la entrada en fase estacionaria, *Campylobacter* muestra un estado viable pero no cultivable (VPNC) (Moore y cols., 2006). En este estado *Campylobacter* deja de tener una forma espiral móvil para presentar una morfología cocoide, siendo controvertido el hecho de que pueda convertirse de nuevo en forma cultivable infectante (Ikeda y Karlyshev, 2012). No obstante aún no se conoce del todo cual es la importancia de estas formas VPNC con respecto a la infección de los animales y de los humanos con *Campylobacter*, pudiendo incluso ser diferente según la cepa de *Campylobacter* y la especie animal a la que infecte (Medema y cols., 1992; Van de Giessen y cols., 1996).

Por otra parte, se cree que *Campylobacter* puede responder a los cambios que se generan en el entorno mediante la síntesis de determinados componentes que regulan una serie de genes que a la vez mejoran su capacidad de supervivencia en el medio. Estos componentes son la

histidina quinasa sensorial, localizada en el citoplasma y un regulador de respuesta localizado en la membrana citoplasmática. Así, mientras que la histidina quinasa tiene como función la detección externa, los reguladores de respuesta funcionan como efectores para responder a los cambios frente a los estímulos ambientales (Murphy y cols., 2006). Además, durante la fase de crecimiento se secretan una serie de proteínas extracelulares que inducen una mayor tolerancia frente al estrés ambiental (Murphy y cols., 2003). Algunas de estas proteínas pueden transferirse de unas cepas a otras, dando protección a todas las cepas presentes (Murphy y cols., 2006).

Otro mecanismo de resistencia de numerosas bacterias es la formación de biofilm, una sustancia polimérica extracelular en la que un conjunto de células quedan protegidas pudiendo aumentar su capacidad para sobrevivir en condiciones extremas y protegidas frente a la inactivación por el oxígeno, las bajas temperaturas o la falta de nutrientes (Murphy y cols., 2006). De este modo, *Campylobacter* puede formar biofilm en medios acuáticos (Buswell y cols., 1998) y en superficies de plástico de poliestireno, vidrio o acero inoxidable característica que adquiere un papel muy importante en el entorno del procesado de alimentos (Gunther y Chen, 2009).

Son numerosas las instituciones entre las que se incluye la Organización Mundial de la Salud (WHO) que se han hecho eco en sus foros y publicaciones de la trascendencia que tienen las resistencias antimicrobianas para la salud pública, situándolas como uno de los principales retos sanitarios del siglo XXI (Smith y cols., 2001). De hecho, se estima que unas 25.000 personas mueren anualmente en Europa como consecuencia directa de las resistencias a los antimicrobianos (Baquero, 2010). Por otra parte, el incremento de las resistencias antimicrobianas debido al uso indiscriminado en los animales destinados al consumo humano y su emergencia a nivel global son muy preocupantes.

En este sentido, al tratarse de un patógeno zoonótico, la aparición de cepas resistentes aisladas a partir de reservorios animales presenta serias implicaciones en el tratamiento de la campilobacteriosis humana (Moore y cols., 2006). Así, la aprobación del uso de fluoroquinolonas durante la década de los noventa en aves domésticas en Europa y Estados Unidos produjo un aumento de las resistencias frente a este grupo de antibióticos en cepas de *Campylobacter* aisladas en animales y humanos (Nachamkin y cols., 2002; Smith y Fratamico, 2010), sugiriéndose que estas resistencias podrían persistir durante largos periodos de tiempo (Price y cols. 2007). Asimismo, se ha observado un incremento en el porcentaje de cepas de *Campylobacter* resistentes a macrólidos (Aarestrup y Engberg, 2001), al igual que frente a tetraciclina (Avrain y cols., 2003 y 2004), presentándose por lo general, la menor resistencia

frente a gentamicina (Sáenz y cols., 2000; Avrain y cols., 2003 y 2004). Además, por razones que hoy en día no están claras, las cepas de *C. coli* suelen ser más resistentes frente a los antibióticos que las cepas de *C. jejuni* (D'lima y cols., 2007; Kim y cols., 2008). Si bien, en los países en los que el uso de antibióticos en la producción de broilers no es habitual, la prevalencia de cepas de *Campylobacter* resistentes es muy baja (Norström y cols., 2007).

La campilobacteriosis en los humanos es más duradera y más grave si son infectados con cepas de *Campylobacter* resistentes a los antimicrobianos, si bien no está claro si esto es simplemente por este hecho, o si las cepas resistentes tienden a tener un mayor número de factores de virulencia (Moore y cols., 2006). Por suerte, las personas que presentan complicaciones debido a la infección con *Campylobacter* son escasas y la mayoría no requieren antibióticos, tratándose los casos más severos con macrólidos, tetraciclina o fluoroquinolonas aunque el incremento de resistencias antimicrobianas puede comprometer la eficacia de estos tratamientos (Silva y cols., 2011). Así, la gentamicina es hoy en día la alternativa a las fluoroquinolonas y macrólidos en las infecciones sistémicas causadas por *Campylobacter* (Aarestrup y Engberg, 2001).

Aunque la capacidad de *Campylobacter* para colonizar el tracto intestinal puede variar entre las distintas cepas (Ringoir y Korolik, 2002), de forma experimental se ha demostrado que una dosis infectante de 40 UFC de *Campylobacter* pueden ser suficiente para infectar a los pollos (Cawthraw y cols., 1996). Así, una vez que la infección está establecida, *Campylobacter* alcanza rápidamente un elevado número en el contenido cecal, observándose una media de 10^6 - 10^7 UFC/g de heces en los broilers con 30-45 días de edad (Stern y Robach, 2003; Stern y cols., 2004).

Por otra parte, no parece que existan estudios publicados en relación a la dosis infectante en perros domésticos. Si bien, en el año 2010 se publicó el primer estudio de cuantificación de las distintas especies de *Campylobacter* eliminadas en las heces de perros sanos y con diarrea, encontrándose el nivel individual de cada especie de *Campylobacter* detectada entre 10^3 y 10^8 organismos/gramo de heces (Chaban y cols., 2010); además, se aislaron hasta siete y doce especies diferentes de *Campylobacter* en perros sanos y con diarrea respectivamente (Chaban y cols., 2010).

En cuanto a los humanos, la dosis infectante que se describe es muy baja, pudiendo causar enfermedad menos de quinientas células de *Campylobacter* (Robinson, 1981; Black y cols., 1988). Así, Tribble y cols. (2010) realizaron un estudio experimental para comprobar la relación

de la dosis infectante de *Campylobacter* con la presentación de la enfermedad en diferentes grupos de personas, observando que entre el cuarenta y el sesenta por ciento de los individuos que no habían sido infectados previamente con *Campylobacter* resultaron enfermos con dosis de 10^5 UFC y el 92 por ciento con dosis de 10^9 UFC, mostrándose un aumento dosis dependiente en la incidencia de los casos de campilobacteriosis. No obstante, no encontraron relación entre la dosis infectante y los síntomas asociados o la gravedad de la enfermedad.

Los mecanismos específicos de virulencia de *Campylobacter* aún no se han determinado con claridad (Guerry, 2007; Dasti y cols., 2010). Así, se han identificado como mecanismos de virulencia la motilidad mediada por flagelos, la adhesión a la mucosa intestinal, la capacidad invasiva y la capacidad para producir toxinas (Asakura y cols., 2007; Dasti y cols., 2010).

La motilidad flagelar es esencial para la colonización del tracto intestinal (Guerry, 2007). Además, el papel del flagelo es determinante para la supervivencia de *Campylobacter* en diferentes nichos ecológicos en el tracto digestivo (Jagannathan y Penn, 2005). El flagelo está compuesto de flagelina glicosilada O-ligada, así como de un sistema con dos componentes formado por el sensor FlgS y el regulador de respuesta FlgR, ambos fundamentales en la regulación del flagelo (Dasti y cols., 2010). Asimismo, el flagelo posee dos flagelinas: FlaA y FlaB (Konkel y cols., 2001; Guerry, 2007), codificadas por el gen flaA y el gen flaB, respectivamente (Jagannathan y Penn, 2005). Mientras que el gen flaA es esencial para la invasión de las células epiteliales pues su mutación da lugar a una reducción importante en la motilidad, una mutación en el gen flaB no parece tener importancia (Guerry, 2007). Además, se cree que los flagelos poseen la capacidad de secretar proteínas no flagelares asociadas con el fenómeno de virulencia en sí (Poly y Guerry, 2008). Igualmente, los flagelos podrían tener un papel fundamental en la adherencia a superficies abióticas como el vidrio (Joshua y cols., 2006; Kalmokoff y cols., 2006).

Del mismo modo, la toxina citoletal de distensión (TCD) ha sido descrita como un importante factor de virulencia de *Campylobacter* (Asakura y cols., 2008). Así, la holotoxina TCD hace que las células eucariotas se detengan en la fase G2-M del ciclo celular, evitando que entren en mitosis y en consecuencia, provocando la muerte celular (Ge y cols., 2008; Zilbauer y cols., 2008). Esta toxina está compuesta de tres subunidades codificadas por los genes cdtA, cdtB y cdtC, siendo las tres, responsables de la unión de ésta a la membrana celular del hospedador (Ge y cols., 2008). Tras unirse, la subunidad CdtB, con actividad similar a la

ADNasa I, rompe la doble cadena del ADN de las células evitando que la célula pueda dividirse (Ge y cols., 2008).

Los lipooligosacáridos y los lipopolisacáridos de membrana de *Campylobacter* también son importantes factores de virulencia, mostrando propiedades endotóxicas y un papel fundamental en la adhesión celular (Fry y cols., 2000; Van Vliet y Ketley, 2001). Concretamente, los lipooligosacáridos, a través del mimetismo molecular entre su estructura y los gangliósidos de los nervios periféricos, pueden dar lugar a complicaciones postinfecciosas como el síndrome de *Guillain-Barré* y el síndrome de *Miller Fisher* (Dorrell y Wren, 2007).

Por último, se ha señalado que los plásmidos (Bacon y cols., 2000) y la cápsula (Bacon y cols., 2001) pueden estar implicados en la virulencia de *C. jejuni*.

Contagio

Tanto el hombre como los animales se infectan con *Campylobacter* mediante la vía de transmisión fecal-oral, de forma directa o indirecta, es decir, mediante la ingestión directa de las heces con este organismo o bien indirectamente por el consumo de agua o alimentos contaminados con heces con *Campylobacter* (Gorkiewicz y cols., 2002; EFSA Journal, 2005; Posch y cols., 2006; Newell y cols., 2011).

Los broilers, al ser animales coprófagos, se contagian de forma muy rápida dentro de una nave, y la mayoría (hasta el 100%) de los broilers de un lote positivo están infectados en solo unos pocos días (Shreeve y cols., 2000; Mifflin y cols., 2001; Katsma y cols., 2007).

Por otra parte, la transmisión vertical de *Campylobacter* en los broilers es una cuestión controvertida. Así, *Campylobacter* ha sido aislado en distintas partes del tracto reproductivo de las gallinas reproductoras (Camarda y cols., 2000; Buhr y cols., 2002), sugiriéndose que esta bacteria puede ascender desde la cloaca ya que se han encontrado cepas idénticas en las heces (Camarda y cols., 2000, Hielt y cols., 2002a). Además, también se ha aislado *Campylobacter* a partir del semen de gallo, por lo que el aparato genital de las gallinas podría infectarse también vía venérea (Cox y cols., 2001). En este sentido, algunos estudios han detectado *Campylobacter* en alrededor del uno por ciento de huevos de gallinas infectadas (Doyle, 1984, Shanker y cols., 1986).

A pesar de que se ha demostrado que las cáscaras de huevo pueden ser permeables a *Campylobacter* (Allen y Griffiths, 2001), éste quedaría en la cáscara interior o en las membranas y no en el contenido de los huevos (Doyle, 1984; Neill y cols., 1985). Por tanto, la infección del contenido del huevo se debería a la contaminación fecal de la superficie externa del huevo y la consiguiente entrada de *Campylobacter* a través de las posibles grietas de la cáscara (Doyle, 1984), aunque los pollitos podrían infectarse también vía oral al eclosionar el huevo si este presenta contaminación fecal (Newell y Fearnley, 2003).

Sin embargo, se ha observado que la inoculación de las membranas corioalantoides con *Campylobacter* es letal para los embriones (King y cols., 1993), produciendo pollos viables en alrededor del diez por ciento de los huevos infectados (Clark y Bueschkens, 1985, Shane y cols., 1986). No obstante, *Campylobacter* no se ha aislado en pollos recién nacidos (Lindblom y cols., 1986; Jacobs-Reitsma, 1995; Pearson y cols., 1996) hecho que sugiere que la transmisión vertical no es habitual (Chuma y cols., 1997; Petersen y cols., 2001; Sahin y cols., 2003a).

De esta manera, la mayoría de los lotes de broilers se infectan a los 14-21 días de edad (Jacobs-Reitsma y cols., 1995; Evans y Sayers, 2000), siendo la transmisión horizontal la responsable de la infección (Lyngstad y cols., 2008; Näther y cols., 2009). La contaminación interna de la nave en la que se cría un lote de broilers puede deberse a la persistencia de este organismo a partir del alojamiento de lotes anteriores positivos a *Campylobacter* o por insectos que actúan como reservorios de este organismo. Asimismo, *Campylobacter* puede ser introducido en la nave desde el exterior mediante el alimento, la cama o el agua, así como la entrada y salida de los granjeros, el personal de mantenimiento o los veterinarios. También, la entrada en la nave de animales domésticos o salvajes, pájaros e insectos puede ser una vía de transmisión (Newell y Fearnley, 2003). Aunque no hay estudios que hayan aislado *Campylobacter* en las naves vacías, limpias y desinfectadas (Newell y Fearnley, 2003), Shreeve y cols. (2000) encontraron cepas idénticas en el quince por ciento de lotes consecutivos en una nave, sugiriendo que *Campylobacter* podía transmitirse de un lote a otro.

Por otro lado, el alimento o la cama nueva no se consideran una fuente de infección importante pues sus condiciones secas son letales para *Campylobacter* (Berndtson y cols., 1996a). Sin embargo, *Campylobacter* si puede sobrevivir en el agua y hay estudios que han encontrado las mismas cepas en instalaciones de agua que en las heces de los broilers de la misma nave (Pearson y cols., 1996); si bien, la contaminación del agua normalmente es precedida por la contaminación del lote de broilers (Engvall y cols., 1986; Lindblom y cols.,

1986; Kazwala y cols., 1990), sugiriendo que las instalaciones se contaminan a partir de las heces excretadas con *Campylobacter*. No obstante, diversos investigadores señalan que son necesarias más investigaciones para establecer el papel del agua de las instalaciones de una nave en la infección de un lote de broilers (Newell y Fearnley, 2003).

Además, el personal de la granja mediante el calzado, la ropa o los utensilios pueden introducir *Campylobacter* desde el exterior de la nave al interior. Así, hay estudios que han encontrado *Campylobacter* en el agua estancada de los alrededores de una nave antes de que el lote sea positivo y más tarde han aislado la misma cepa en el lote de broilers (Newell, 2001; Hiett y cols., 2002b). Del mismo modo se ha señalado que las cajas utilizadas para transportar los broilers al matadero pueden infectar al lote, detectándose *Campylobacter* en cajas usadas con anterioridad en lotes positivos y con procedimientos de lavado inadecuados (Newell y cols., 2001; Hiett y cols., 2002b; Slader y cols., 2002).

Respecto a los animales portadores de *Campylobacter* que pueden entrar en una nave de broilers, se han aislado las mismas cepas de este organismo en ratones capturados en los alrededores de una granja y en las heces de los broilers (Hietty cols., 2002b). Igualmente, se ha detectado *Campylobacter* en insectos localizados dentro y en los alrededores de la nave, tales como moscas (Hald y cols., 2008; Choo y cols., 2011), escarabajos (*Alphitobius diaperinus*) (Jacobs-Reitsma y cols., 1995) y cucarachas (*Periplaneta americana* y *Blatta orientalis*) (Umunabuike y Irokanulo, 1986) aunque las bacterias podrían sobrevivir en los insectos solo durante unos pocos días (Evans, 1992). Las aves silvestres como las palomas, passeriformes y las aves acuáticas pueden ser portadoras de *Campylobacter* (Craven y cols., 2000, Fallacara y cols., 2001). De esta forma, hay estudios que han aislado las mismas cepas en las heces de aves silvestres que en el ciego de broilers (Newell, 2001; Hiett y cols., 2002b).

Además, *Campylobacter* se ha aislado en cerdos, ganado vacuno y ovejas, así como en perros y gatos pudiendo contaminar el calzado, la ropa o los utensilios del personal de la granja (Newell y Fearnley, 2003). En este sentido, se han encontrado cepas idénticas de *Campylobacter* en el ganado vacuno y en broilers alojados en naves cercanas (Newell, 2001).

La duración de la infección y la diseminación de *Campylobacter* en las aves domésticas no se ha determinado con claridad, aceptándose que los broilers persisten infectados con *Campylobacter* al menos durante el tiempo de vida en la granja, aunque esto puede variar según la cepa de *Campylobacter* (Ringoir y Korolik, 2002). Además, se ha observado que

cuando las aves tienen más de ocho semanas de edad, tanto el número de *Campylobacter* en contenidos cecales como el número de animales infectados pueden disminuir (Achen y cols., 1998). De esta forma, puesto que el intestino de las aves es reservorio de este organismo, la evisceración mecánica en el matadero puede dar lugar a un gran porcentaje de producto final contaminado, consecuencia de la ruptura del intestino, posterior descarga de su contenido y consiguiente contaminación de las canales (Posch y cols., 2006). Asimismo, durante el procesado a lo largo del matadero se producen también contaminaciones cruzadas de las canales tanto a partir de los aerosoles y gotas suspendidas en el aire que contienen *Campylobacter* (Posch y cols., 2006) como mediante el contacto con las instalaciones y el agua de escaldado (Chantarapanont y cols., 2004).

Por otra parte, no hay que olvidar que la infección con *Campylobacter* no se limita solamente al sistema gastrointestinal pudiendo encontrarse en el tejido muscular y el hígado de los broilers, lo que supone una fuente de infección sin contaminación fecal (Barot y cols., 1983; Young y cols., 1999).

El contagio con *Campylobacter* en los perros, no se ha estudiado con el mismo detalle que en los broilers. Así, se ha sugerido que los perros podrían infectarse mediante el consumo de carne cruda (Lenz y cols., 2009) o restos de comida para humanos (Damborg y cols., 2004). Del mismo modo, estudios sobre factores de riesgo hacen pensar que el contacto con otros perros (Damborg y cols., 2004; Westgarth y cols., 2009) o con aves domésticas (Wieland y cols., 2005) pueden suponer también una vía de transmisión para los perros. Recientemente, Mughini Gras y cols. (2013) han aislado las mismas cepas de *Campylobacter* en los perros y sus dueños, sin poder determinar la direccionalidad de la transmisión, sugiriendo que podría ser posible que los perros se infecten a través de las personas.

En humanos, los brotes causados por *Campylobacter* son poco frecuentes, representando el 8,9 por ciento del total de los brotes de origen alimentario comunicados en la UE (EFSA Journal, 2012a), apareciendo en la mayoría de los casos como enfermedad esporádica (Friedman y cols., 2000)

De esta forma, los casos esporádicos de campilobacteriosis humana se producen sobre todo mediante el consumo de carne de pollo fresca cocinada insuficientemente y el manejo de la carne de pollo cruda (Kapperud y cols., 2003; Sheppard y cols., 2009), siendo menos habitual la infección por el consumo de carne de otros animales como el pavo, el cerdo o el ganado

bovino (EFSA Journal, 2012a). Así, no es común la campilobacteriosis debida al consumo de verduras crudas ya que en estos alimentos se ha encontrado *Campylobacter* en muy baja proporción (Odumeru y cols., 1997; Kumar y cols., 2001).

Por otro lado, los casos esporádicos de esta enfermedad también pueden deberse al contacto directo con animales destinados al consumo humano (Gorkiewicz y cols., 2002) y animales de compañía (Mughini Gras y cols., 2013). Así, en los Estados Unidos el quince por ciento de los casos de campilobacteriosis humana son atribuidos al contacto con animales de compañía (Stehr-Green y Schantz, 1987). Además, aunque es poco frecuente, Blaser y cols. (1981) señalaron que la transmisión directa persona a persona fue la responsable de la diseminación de *Campylobacter* entre dos familias.

En lo referente a los brotes de campilobacteriosis, la carne de pollo está relacionada con la mayoría de estos brotes en la UE, siendo también frecuentes los brotes originados por el consumo de leche cruda y de agua contaminada con *Campylobacter* (EFSA Journal, 2012a). En este sentido, el agua contaminada puede dar lugar a brotes de enfermedad no solo por su consumo, sino durante el disfrute de actividades acuáticas recreativas, tanto en agua de ríos (Savill y cols., 2001) como en agua marina (Alonso y Alonso, 1993).

PATOGENIA

Como ya se señaló anteriormente, por lo general, *Campylobacter* no actúa como patógeno en el tracto intestinal de los animales (OIE, 2008), aunque en el caso de los perros este hecho es controvertido (Olson y Sandstedt, 1987; Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011). En humanos, no obstante, *Campylobacter* es la causa de gastroenteritis bacteriana más importante a nivel mundial (WHO, 2011) siendo *C. jejuni* y *C. coli* las especies más importantes (OIE, 2008), seguidas de *C. lari* y *C. upsaliensis* (EFSA Journal, 2012a).

La descripción de la patogenia de *Campylobacter* se centra por tanto en la especie *C. jejuni* por ser esta la especie más estudiada, si bien existen lagunas que hacen que aún existan aspectos por comprender en su totalidad. Actualmente se conocen por ejemplo, las diferencias entre *C. jejuni* y otras bacterias que causan gastroenteritis en la expresión de un gran número de factores de virulencia (Dasti y cols., 2010). En este sentido, y con la finalidad de ayudar en la comprensión de la patogénesis de *C. jejuni*, diversos autores han llevado a cabo estudios para determinar las características genéticas, rasgos metabólicos y potenciales factores de

virulencia de las cepas de alta virulencia de *C. jejuni* en comparación con el resto de cepas (Hofreuter y cols., 2006). No obstante, los investigadores señalan que los factores dependientes del hospedador deberían tenerse en cuenta al discutir la patogenicidad de *Campylobacter* en humanos (Havelaar y cols., 2009).

Campylobacter jejuni obtiene la energía a partir de los aminoácidos o del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, y no a partir de los hidratos de carbono (Debruyne y cols., 2008) dependiendo por tanto, principalmente de la recolección de residuos aminoácidos y cetoácidos del hospedador o de su flora microbiana intestinal (Dasti y cols., 2010).

El conocimiento que tenemos hoy en día sobre la estrategia de colonización de *C. jejuni* en el intestino de los animales es limitado. En este sentido, Van Deun y cols. (2008a) demostraron la capacidad de *C. jejuni* para invadir pero no para proliferar dentro de las células epiteliales de las criptas cecales de los broilers, sin producir necrosis o apoptosis, ni la inflamación del intestino; en cambio, observaron que *C. jejuni* es capaz de replicarse rápidamente en el mucus intestinal de los broilers. Por otra parte, en los perros domésticos la mayor parte de los microorganismos parecen encontrarse en la mucosa del ciego y del colon, y en menor medida en el intestino delgado (Macartney y cols., 1988), encontrando otros autores que la mayoría de estas bacterias están presentes solamente en el colon de estos animales (Fox y cols., 1984).

En humanos, sin embargo, algunos autores apuntan que *C. jejuni* coloniza inicialmente el yeyuno y el íleon, y posteriormente el colon (Allos y Blaser, 1995; Skirrow y Blaser, 2000), aunque existen estudios que han encontrado alteraciones principalmente en el colon (Black y cols., 1988; Babakhani y cols., 1993; Russell y cols., 1993), sin que aún se haya determinado la localización precisa de *C. jejuni in vivo* (Konkel y cols., 2001). En cambio, sí es sabido que la motilidad (Dasti y cols., 2010) y la quimiotaxis (Konkel y cols., 2001) desempeñan un papel fundamental en la campilobacteriosis humana, siendo necesarias más investigaciones sobre ello.

La motilidad depende fundamentalmente del flagelo polar, aunque este desempeña otras funciones independientemente de la motilidad, como son el abordaje de los sitios de unión sobre las células epiteliales del intestino (Dasti y cols., 2010) y su posterior invasión (Grant y cols., 1993; Wassenaar y Blaser, 1999). La regulación del flagelo está determinada por el sensor FlgS y el regulador de respuesta FlgR (Dasti y cols., 2010) mientras que otros reguladores como *fliA* (sigma28), *rpoN* (sigma54) y *rpoD* (sigma70) intervienen en la expresión

de los genes involucrados en la motilidad, la secreción de proteínas y la invasión de las células intestinales (Carrillo y cols., 2004; Wösten y cols., 2004; Hendrixson, 2006). Otras dos proteínas conocidas como FlgP y FlgQ son también esenciales para la motilidad flagelar de *C. jejuni*, aunque su mecanismo funcional no está claro (Sommerlad y Hendrixson, 2007).

La quimiotaxis se define como el movimiento de un organismo hacia o en contra de un estímulo químico y supone un factor fundamental para que *Campylobacter* sea capaz de dirigirse a lugares específicos en el tracto intestinal del hospedador y consiga colonizarlos (Konkel y cols., 2001). Actualmente se conocen y se han secuenciado diferentes genes de *C. jejuni* implicados en la quimiotaxis (*cheA*, *cheW*, *cheV*, *cheY*, *cheR* y *cheB*), algunos de ellos implicados también en la colonización comensal del intestino de los broilers (Hendrixson y DeRita, 2004), siendo el gen *cheY* el regulador de respuesta con un papel central en la rotación flagelar, crucial para la virulencia (Yao y cols., 1997). En experimentos realizados *in vivo*, se observó como *Campylobacter* migra hacia las criptas llenas de mucus, aunque es incapaz de penetrarlo debido a su viscosidad. Así, tras la migración hacia el mucus, *C. jejuni* desarrolla una respuesta adaptativa ante el microambiente intestinal, sintetizando un nuevo conjunto de proteínas que permiten su interacción con las células diana del hospedador (Konkel y cols., 2001).

La adhesión de *C. jejuni* desempeña un papel temprano en el proceso infeccioso, uniéndose específicamente a receptores de las células del hospedador. En este sentido, muchos estudios apoyan la necesidad de las adhesinas en el establecimiento de la enfermedad, por lo que resultaría interesante precisar si *C. jejuni* tiene predilección por los receptores de la superficie apical o basolateral de los enterocitos (Konkel y cols., 2001). Así, se han identificado factores de adhesión en *C. jejuni* tales como la proteína CadF de unión a fibronectina en la membrana externa (Konkel y cols., 1997), el autotransportador CapA, la proteína PEB1 de unión periplásmica (Pei y Blaser, 1993) y la lipoproteína JlpA expuesta en la superficie (Jin y cols., 2001). Concretamente, la proteína CadF se expresa en todas las cepas de *C. jejuni* y *C. coli* e interviene en la adhesión celular mediante la unión a la fibronectina de la matriz celular. Sin embargo, el gen *cadF* se diferencia en una secuencia de inserción de 39 pb entre las especies *C. coli* y *C. jejuni* (Dasti y cols., 2010), demostrándose como la adhesión e invasión de *C. jejuni* en las células epiteliales intestinales es mucho más eficiente que *C. coli* (Dasti y cols., 2010). Asimismo, Krause-Gruszczynska y cols. (2007a) confirmaron mediante cepas mutantes que la proteína CadF supone un importante factor de virulencia.

De esta forma, tras la unión de *C. jejuni* a las células intestinales del hospedador, este organismo es internalizado por los enterocitos. De hecho, la presencia de esta bacteria en tejidos de biopsias y varios modelos de cultivo de tejidos han demostrado la habilidad de invasión de *C. jejuni* (Konkel y cols., 1990; Wassenaar y cols., 1991; Grant y cols., 1993; Pei y cols., 1998; Rivera-Amill y cols., 2001). La proteína CadF no solo está implicada en la adhesión celular, también se encarga de la activación de GTPasas Rac1 y Cdc42 induciendo así la internalización de la bacteria (Dasti y cols. 2010). Si bien, no se conoce el papel preciso en el proceso de invasión de *C. jejuni* de otros factores como el polisacárido capsular (Karlyshev y Wren, 2001), la sialilación de los lipooligosacáridos (Louwen y cols., 2008) o los antígenos invasivos de *Campylobacter* (Rivera-Amill y cols., 2001). Igualmente, la proteína FlaC, homóloga de las flagelinas FlaA y FlaB, podría jugar un importante papel en la invasión de las células hospedadoras (Song y cols., 2004). De esta forma, *C. jejuni* entra en la célula epitelial intestinal con su punta seguida de su final flagelar (Krause-Gruszczynska y cols., 2007b, Dasti y cols., 2010), destruyendo específicamente la punta de las vellosidades que están completamente diferenciadas, en lugar de las células indiferenciadas de la cripta (Babakhani y cols., 1993), causando necrosis por la acción de una o más toxinas bacterianas (Konkel y cols., 2001). De este modo, se ha observado una fuerte asociación entre la presentación de la enfermedad diarreica y el grado de invasividad de la bacteria (Russell y cols., 1993).

Varios estudios *in vitro* han demostrado como al igual que ocurre con otros patógenos entéricos, la capacidad de *C. jejuni* para atravesar una monocapa de células no se corresponde con su invasividad, siendo una minoría las bacterias que finalmente consiguen invadir las células (Harvey y cols., 1999; Dasti y cols., 2010). El mecanismo por el cual *C. jejuni* atraviesa la barrera intestinal de los enterocitos no se conoce con exactitud; parece ser que el acceso a la submucosa y al tejido subyacente se produce mediante la interacción con una serie de moléculas que actuarían como receptores (Konkel y cols., 2001). En este sentido, Walker y cols. (1988) observaron como *C. jejuni* tiene acceso a la submucosa intestinal a través de su captación por las células M de las placas de Peyer del intestino delgado. Así, el mecanismo por el cual *C. jejuni* traspasa la barrera celular intestinal a través de los enterocitos no está claro, pudiendo hacerlo mediante una ruta transcelular (a través de una célula) o paracelular (entre las células) (Everest y cols., 1992; Konkel y cols., 1992; Grant y cols., 1993; Brás y Ketley, 1999; Harvey y cols., 1999).

El momento en el que la bacteria traspasa la barrera intestinal se ha asociado con el desarrollo de enteritis (Konkel y cols., 2001). A largo plazo, los efectos del traspaso/invasión o

la acumulación de toxinas bacterianas provocan un trastorno de las uniones celulares del intestino dando lugar a la pérdida de integridad de la monocapa (Brás y Ketley, 1999; MacCallum y cols., 2005a). No obstante, la incidencia de casos de septicemia por *Campylobacter* es baja (0,4%) (Allos y Blaser, 1995), pues *C. jejuni* no está bien preparado para sobrevivir y proliferar más allá del intestino (Konkel y cols., 2001). Sin embargo, Kalischuk y cols., (2009) demostraron como *C. jejuni*, independientemente de su invasividad, promueve el traspaso a través del epitelio de bacterias intestinales comensales hacia los ganglios linfáticos mesentéricos, el hígado y el bazo. Por el contrario, también existen una serie de sustancias, como el butirato, metabolito resultante de la fermentación de los polisacáridos de las bacterias comensales intestinales, que protege a las células del colon de la invasión y el traspaso bacteriano (Van Deun y cols., 2008b).

La única toxina identificada en *C. jejuni*, la toxina citoletal de distensión (TCD), se ha encontrado también en especies como *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. lari* y *C. fetus* (Johnson y Lior, 1988). Esta toxina induce la distensión de las células caracterizada por la elongación, así como la tumefacción y finalmente la muerte celular (Whitehouse y cols., 1998). Concretamente, la toxina TCD contribuye a la atrofia de las vellosidades, interfiriendo en la proliferación activa de los enterocitos dentro de la cripta, dificultando por tanto la sustitución de las células diferenciadas de la punta de las vellosidades que se verá retrasada (Konkel y cols., 2001).

Todo este proceso de infección viene acompañado por una respuesta inflamatoria (Konkel y cols., 2001). La toxina TCD podría estar implicada en la invasividad y la modulación de la respuesta inmune (Purdy y cols., 2000), interviniendo en la producción de interleuquinas 8 y por tanto en la movilización de células dendríticas, macrófagos y neutrófilos al lugar de infección, dando lugar a la inflamación del intestino en el hombre (Hickey y cols., 1999), aunque no así en los broilers (Dasti y cols., 2010). Del mismo modo, la toxina TCD induce la producción de anticuerpos neutralizantes solo en humanos, lo que indica la existencia de mecanismos específicos del hospedador en el reconocimiento de los antígenos de *C. jejuni* (Young y cols., 2007). De esta forma, la respuesta inflamatoria sería responsable de la intensificación de los síntomas exhibidos por las personas infectadas con *C. jejuni*, pero no de causar la atrofia de las vellosidades observada al principio de la infección cuando existe un número reducido de neutrófilos y otras células inflamatorias en los tejidos dañados (Konkel y cols., 2001). Así, la respuesta inflamatoria es seguida por la reducción de la capacidad de absorción del intestino (Van Deun y cols., 2007).

Es obvio que son necesarios más estudios que profundicen en las estrategias de virulencia únicas que sin duda tiene este microorganismo y que permitan una comprensión más precisa y completa de la patogenia de *Campylobacter* (Konkel y cols., 2001).

Son numerosos los estudios que se han centrado en la investigación de la inmunidad de los broilers frente a *Campylobacter* (Myszewski y Stern, 1990; Cawthraw y cols., 1994; Rice y cols., 1997). No obstante, la naturaleza de esta respuesta inmune aún se desconoce. De esta forma, no es posible el aislamiento de *Campylobacter* en broilers menores de 2-3 semanas de edad bajo condiciones de producción comercial (Jacobs-Reitsma y cols., 1995; Evans y Sayers, 2000; Newell y Wagenaar, 2000; Shreeve y cols., 2000), siendo a partir de este momento cuando la prevalencia de infección aumenta, alcanzando el pico más alto durante el periodo de comercialización de estos animales entre las 6-7 semanas de vida (Evans, 1992; Newell y Wagenaar, 2000; Corry y Atabay, 2001).

Esta resistencia de los pollitos puede estar relacionada con la presencia de anticuerpos maternos específicos frente a *Campylobacter* (Cawthraw y cols., 1994; Rice y cols., 1997; Newell y Wagenaar, 2000; Sahin y cols., 2001) presentes en el cien por cien de los pollitos de un día y que, como demostraron Sahin y cols. (2001), durante la primera semana de vida permanecen con niveles altos reduciéndose sustancialmente a los catorce días de edad. No obstante, hay estudios que señalan que aunque efectivamente los broilers de tres semanas de edad son más susceptibles a la colonización con *Campylobacter* que los de 1-2 semanas debido a la disminución de las IgY de origen materno, hay pollitos recién nacidos con altos niveles de anticuerpos maternos tan susceptibles a *Campylobacter* como los broilers de tres semanas, habiendo un aumento de resistencia desde el primer al tercer día de edad. Hasta ahora, las razones de este hecho son desconocidas, pero pueden explicar la colonización ocasional temprana de los lotes, especialmente cuando la exposición a *Campylobacter* en el ambiente es elevada (Cawthraw y Newell, 2010).

Así, se puede considerar que los anticuerpos maternos específicos contra *Campylobacter* retrasan el inicio de la colonización del intestino en los pollitos a la vez que reducen la propagación horizontal de *Campylobacter* (Sahin y cols., 2003b), sin afectar al desarrollo de la respuesta inmune sistémica ante la infección con este microorganismo (Sahin y cols., 2003b).

Durante la tercera semana de edad, los broilers comienzan a producir sus propios anticuerpos, principalmente frente a la flagelina (Cawthraw y cols., 1994; Jeurissen y cols.,

1998) y de forma muy suave frente a la cápsula (Jeurissen y cols., 1998). Asimismo, no se producen anticuerpos neutralizantes frente a la toxina TCD (Abuoun y cols., 2005). Esta respuesta inmune incompleta contribuye a la colonización del intestino de los broilers por *C. jejuni* (Jeurissen y cols., 1998).

La actividad de la IgG humoral es más elevada al nacimiento, disminuyendo hasta alcanzar su nivel más bajo en la segunda semana de edad, incrementándose gradualmente hasta la octava semana en la que alcanza un nivel similar al detectado en el nacimiento; la actividad de la IgA en cambio, más baja al nacimiento, se incrementa en la cuarta semana de edad. A pesar de estas respuestas, *C. jejuni* es capaz de persistir en el ciego de los broilers durante al menos ocho semanas (Myszewski y Stern, 1990), observándose como transcurrido este tiempo, tanto el número de organismos en los contenidos cecales como el número de animales infectados se reduce progresivamente (Achen y cols., 1998) llegando a encontrarse anticuerpos frente a *Campylobacter* en gallinas de edad avanzada sin estar colonizadas con esta bacteria, sugiriendo que la respuesta de los anticuerpos podría estar asociada con la eliminación de la infección (Genigeorgis y cols., 1986).

En relación a los perros domésticos, también se ha sugerido el desarrollo de inmunidad con la edad, pues se encuentran mayores niveles de prevalencia en cachorros que en perros adultos (Burnens y cols., 1992; Torre y Tello, 1993; Sandberg y cols., 2002; Engvall y cols., 2003; Workman y cols., 2005; Acke y cols., 2006); no obstante, la existencia de infecciones y reinfecciones de larga duración indican la ausencia de inmunidad protectora (Stanley y cols., 1994; Hald y cols., 2004).

Por otro lado, la investigación detallada de la respuesta inmune del intestino a causa de *C. jejuni* en humanos se ha visto obstaculizada por la falta de modelos apropiados de infección en animales (Bereswill y cols., 2011). Se conoce que la respuesta frente a *C. jejuni* en el hombre comienza con la producción a partir de las células epiteliales intestinales de citoquinas proinflamatorias, como IL-8 (interleucina-8), y proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), lo que resulta en la llegada de células dendríticas, neutrófilos y macrófagos al lugar de infección (Hu y Hickey, 2005; MacCallum y cols., 2005b; Watson y Galán, 2005).

La respuesta inmune innata puede iniciarse por los receptores TLRs (receptores tipo Toll) o por las proteínas de dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD) de las células epiteliales intestinales; ambos funcionan como receptores a los que se unen componentes

microbianos específicos, activando las vías de señalización. En contraste con la mayoría de los patógenos bacterianos entéricos, los componentes de la superficie celular de *C. jejuni*, tales como flagelinas y lipooligosacáridos (LOS), son estimuladores muy débiles de TLRs (Siegesmund y cols. 2004; Andersen-Nissen y cols., 2005; Watson y Galán, 2005), sugiriendo que *C. jejuni* ha desarrollado adaptaciones específicas que inducen la producción de citoquinas proinflamatorias independientemente de los TLRs situados en la superficie de la célula del epitelio intestinal (Watson y Galán, 2005).

Por otra parte, las proteínas NOD de las células epiteliales intestinales han sido identificadas como importantes receptores de reconocimiento de patrones intracelulares de *C. jejuni* (Zilbauer y cols., 2007), sugiriendo que durante el desarrollo de esta infección, para inducir la respuesta de las citoquinas proinflamatorias es imprescindible que se produzca la invasión de las células epiteliales intestinales (Dorrell y Wrent, 2007).

Además, los estudios de Bereswill y cols. (2011) muestran como la colonización de *C. jejuni* en ratones está acompañada de una respuesta inmune proinflamatoria caracterizada por un aumento en el número de linfocitos T y linfocitos B, células T reguladoras, neutrófilos y células apoptóticas, así como por una mayor concentración en la mucosa del colon de TNF- α (factor de necrosis tumoral-alpha), IL-6 (interleucina-6) y MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos-1). En cuanto a la respuesta inmune celular, se ha observado un incremento en los niveles de IFN- γ (interferón-gamma) dependiente de la dosis infectante de *Campylobacter*, con grandes variaciones en su concentración en función del individuo (Tribble y cols. 2010). Además, la infección por *C. jejuni* de las células epiteliales intestinales resulta en la producción de péptidos antimicrobianos que actúan como potentes bactericidas (beta-defensinas 2 y 3) que podrían desempeñar un papel fundamental en la naturaleza autolimitante de la infección (Zilbauer y cols., 2005).

Respecto a la inmunidad humoral, se han observado diferencias entre la respuesta generada por individuos expuestos a dosis crecientes de *C. jejuni* y la que desarrollaron individuos que se infectaron por primera vez. Así, mientras que en los primeros no se observaron variaciones significativas en los niveles de inmunoglobulinas seroespecíficas (78%-80% de IgM, 75%-100% de IgA y 60%-64% de IgG), en personas no infectadas previamente con *Campylobacter*, el nivel de IgG aumentó gradualmente y se mantuvo por encima del punto de referencia, excepto cuando la dosis de *Campylobacter* inoculada fue de 10^7 UFC (Tribble y cols., 2010). En comparación con la IgG, en este segundo grupo la magnitud

de IgA o IgM fue menor y tendió a disminuir. Además, todos los individuos infectados por primera vez presentaron anticuerpos IgA específicos de antígenos de *Campylobacter*, observándose una fuerte respuesta de IgA fecales en el 86%-100% de los pacientes, con un pico máximo entre los días 7-9 postinfección, así como leucocitosis ($> 10.000/\text{mm}^3$) en el veinte por ciento de los individuos infectados con dosis de 10^5 y 10^9 UFC (Tribble y cols., 2010). En cambio, en las infecciones en niños menores de seis meses se han observado niveles bajos de IgA, IgG e IgM, posiblemente debido a la presencia de anticuerpos maternos (Young y cols., 2007).

Asimismo, existen evidencias de la aparición de inmunidad adquirida en la campilobacteriosis humana (Bell y Manning, 1990; Miller y cols., 2005) observándose como las personas en contacto regular con animales son menos propensas a desarrollar la enfermedad que aquellas que no mantienen ninguna relación con ellos (Forbes y cols., 2009). En este sentido, Tribble y cols. (2010) comprobaron la evidencia de una protección completa adquirida frente a *Campylobacter* a corto plazo y atenuada con el tiempo, al observar como después de un año, un grupo de personas infectadas con *Campylobacter* mostró mayor número de anticuerpos séricos basales que el grupo que no fue infectado anteriormente con este organismo, aumentando solamente de forma significativa el nivel de IgG tras 28-49 días de la primoinfección con *Campylobacter*. Tras la reexposición a la bacteria se observó que las personas reinfectadas a los 28-49 días de padecer la enfermedad no desarrollaron ningún aumento en los niveles de anticuerpos. En contraste, el grupo de personas que padecieron campilobacteriosis un año atrás desarrollaron un pico máximo de IgM el día 10 postinfección al infectarse nuevamente. En contraste, el grupo de personas infectadas por primera y única vez mostraron el pico de IgM el día 21, así como un aumento en los niveles de las IgA (Tribble y cols., 2010).

CLÍNICA Y LESIONES

Los animales con *Campylobacter* en su tracto digestivo se comportan como portadores asintomáticos, desarrollando la enfermedad clínica en raras ocasiones (OIE, 2008).

Así, los broilers infectados con *Campylobacter* no muestran sintomatología aparente, incluso cuando a los pocos días de edad están expuestos a dosis altas de este organismo en condiciones experimentales (Newell y Fearnley, 2003). No obstante, *Campylobacter* se ha asociado con casos de hepatitis y disminución de la producción de huevos en gallinas

(Burch, 2005) y en avestruces (Stephens y cols., 1998) con altas tasas de morbilidad y mortalidad, aunque esta manifestación de la enfermedad se considera esporádica y no se ha podido reproducir en broilers sanos tras la infección experimental con una cepa de *C. jejuni* aislada a partir de un hígado con signos de hepatitis focal (Jennings y cols., 2011).

En los perros domésticos, algunos autores han descrito la existencia de relación entre los procesos entéricos en estos animales y la presencia de *Campylobacter* en las heces (Burnens y cols., 1992), presentando a veces retraso en el crecimiento, una pobre condición corporal y el pelaje áspero (Brown y cols., 1999). En contraste, otros estudios no encuentran relación entre los perros con diarrea y el aislamiento del microorganismo, sugiriendo que el aislamiento se produce en aquellos individuos que son portadores asintomáticos de esta bacteria (Rossi y cols., 2008; Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011). Así, algunos autores han sugerido que *Campylobacter* puede ser oportunista o sinérgico con otros agentes patógenos en el intestino de los perros, siendo más probable que cause enfermedad cuando otros organismos ya han invadido la mucosa, permitiéndole una colonización más eficaz (Fox y cols., 1984; Dillon y cols., 1987; Olson y Sandstedt, 1987).

En las personas sin embargo, no es frecuente la existencia de portadores asintomáticos de *Campylobacter* (Tauxe, 1992) a excepción de aquellas que trabajan en entornos infectados permanentemente, pudiendo llegar entonces a no mostrar sintomatología (Cawthraw y cols., 2000). Los síntomas de la enfermedad aparecen por lo general entre los dos y los cinco días después de la infección, pudiendo variar entre uno y diez días. Cursa con diarrea aguda acuosa o sanguinolenta (Ketley, 1997) que puede ir acompañada de dolor de cabeza, fiebre, vómitos o dolor abdominal y suele durar entre tres y seis días (WHO, 2011), siendo el proceso similar en niños, adolescentes y adultos (Chen y cols., 2011; WHO, 2011; Hou y cols., 2012).

Aunque es poco frecuente, también se puede producir una infección sistémica que cursa con bacteriemia (Sakran y cols., 1999; Fernández-Cruz y cols., 2010), endocarditis (Dinant y cols., 2011), hepatitis (Korman y cols., 1997), pancreatitis (Kandula y cols., 2006), neumonía (Sakran y cols., 1999), meningitis (Thomas y cols., 1980; Dronda y cols., 1998) o glomerulonefritis (Op Den Winkel y cols., 2010), así como la infección del feto en mujeres embarazadas donde pueden producirse abortos espontáneos (WHO, 2011).

Aunque la mayoría de las infecciones son de carácter autolimitante y no requieren tratamiento antibiótico (WHO, 2011), en ocasiones pueden producirse complicaciones

postinfecciosas como el síndrome de *Guillain-Barré* (Heikema y cols., 2013), el síndrome de *Miller-Fisher* (Heikema y cols., 2013) y la artritis reactiva (Hannu y cols., 2002). Durante años se ha creído que los lipooligosacáridos de membrana de *Campylobacter* eran fundamentales para provocar el síndrome de *Guillain-Barré* y *Miller-Fisher*. De esta forma, a través del mimetismo molecular entre la estructura de los lipooligosacáridos y los gangliósidos de los nervios periféricos se producen trastornos desmielinizantes que pueden llevar a una parálisis neuromuscular aguda (Heikema y cols., 2013). No obstante, en los últimos años se ha indicado que en algunos casos estas neuropatías inmunomediadas pueden producirse también a través de otros mecanismos diferentes al mimetismo molecular (Godschalk y cols., 2007).

El síndrome de *Guillain-Barré* comienza con una sensación de hormigueo en los pies que se extiende por todo el cuerpo, produciendo debilidad y finalizando en parálisis. Este síndrome puede durar desde semanas a meses y requiere cuidados intensivos (Bernsen y cols. 2002). Aunque es habitual la recuperación completa, pueden aparecer secuelas como pérdida de fuerza, fatiga y en algunos casos pérdida de libido, permaneciendo los enfermos postrados en cama o en silla de ruedas en aproximadamente el quince por ciento de los casos (Bernsen y cols. 2002). Los estudios de Poropatich y cols. (2010) determinaron que *Campylobacter* es la causa del 31 por ciento de los casos de personas con síndrome de *Guillain-Barré*.

Por otro lado, el síndrome de *Miller-Fisher* es una variante del anterior, en el que se observa como los nervios de la cabeza se ven más afectados que los nervios del resto del cuerpo. Así, se han descrito casos de oftalmoplejia asociados con *C. jejuni* (Kuroki y cols., 2001).

Además, *Campylobacter* puede causar artritis reactiva, conocida como síndrome de *Reiter*. Este síndrome afecta sobre todo a las articulaciones grandes que soportan peso como las rodillas o la zona baja de la espalda (Skirrow y Blaser, 2000; Nachamkin, 2002). No obstante, la muerte por campilobacteriosis en humanos es rara, limitándose este hecho a bebés, ancianos y personas que padecen una enfermedad grave como el SIDA (WHO, 2011).

El hecho de que *Campylobacter* no actúe generalmente como patógeno en el tracto intestinal hace que tampoco suelen producirse lesiones en los animales (OIE, 2008). Sin embargo, en los casos descritos de hepatitis en aves se han encontrado lesiones hepáticas focales de color gris blanquecino en gallinas (Burch, 2005), así como múltiples focos necróticos blancos, amarillentos y verdosos en avestruces (Stephens y cols., 1998).

En los perros, aunque no existen estudios concluyentes sobre si *Campylobacter* es patógeno o no en estos animales, algunos estudios describen anomalías intestinales graves asociadas con este microorganismo, como flacidez del intestino delgado y grueso, y contenido espumoso maloliente, a veces con aspecto mucoide. Microscópicamente en el intestino delgado se describen uniones y atrofia de las vellosidades e infiltrados linfoplasmocíticos en la lámina propia, mientras que en el colon se pueden llegar a observar erosiones superficiales, aumento del número de linfocitos y células plasmáticas en la lámina propia e hiperplasia epitelial en las criptas (Brown y cols., 1999).

En cambio, es indiscutible que *Campylobacter* es un patógeno gastrointestinal en humanos y como tal, produce lesiones específicas como la inflamación tanto en el intestino delgado como en el colon (Konkel y cols., 2001) caracterizada por la infiltración de neutrófilos, abscesos en las criptas, ulceraciones focales y proliferación de las células plasmáticas (Van Spreeuwel y cols., 1985; Walker y cols., 1986; Ketley, 1997). Además, provoca degeneración de las células epiteliales, presencia de fibrina y atrofia de las vellosidades (Konkel y cols., 2001), reduciendo la capacidad de absorción del intestino (Van Deun y cols., 2007).

DIAGNÓSTICO

Para llegar a cabo el *diagnóstico epidemiológico* en un lote de broilers, se deben tener en cuenta factores como la presencia de *Campylobacter* en lotes anteriores alojados en la misma nave (Shreeve y cols., 2000), así como en otros animales que puedan actuar como reservorios en la granja (Newell y Fearnley, 2003) o en el medio ambiente (Hiett y cols., 2002b). Del mismo modo, en los perros domésticos es necesario prestar atención a la alimentación que reciben (Lenz y cols., 2009) y a la convivencia con otros perros (Damborg y cols., 2004), animales (Wieland y cols., 2005) o personas (Mughini Gras y cols., 2013) que pudiesen estar infectados con *Campylobacter*.

En humanos, al considerarse el consumo de pollo o de otro alimento contaminado a partir de la carne de pollo fresca la primera causa de campilobacteriosis (Kapperud y cols., 2003), es fundamental determinar si el pollo se encuentra entre los alimentos ingeridos en los días previos a la presentación de la enfermedad. De la misma forma, conocer si una persona a estado en contacto con animales portadores de *Campylobacter* podría suponer un elemento indicativo pero no concluyente (Gorkiewicz y cols., 2002).

Por otra parte, el *diagnóstico clínico y lesional* solamente sería factible en humanos pues los broilers no presentan enfermedad clínica (Newell y Fearnley, 2003; OIE, 2008) y en los perros no se ha determinado si realmente *Campylobacter* causa procesos entéricos (Olson y Sandstedt, 1987; Leonard y cols., 2011; Stavisky y cols., 2011). No obstante, en humanos este diagnóstico resulta complicado pues la sintomatología de la campilobacteriosis es inespecífica y general de una gastroenteritis (WHO, 2011), haciéndose necesario recurrir al diagnóstico laboratorial.

En el caso de que *Campylobacter* causara procesos entéricos en perros, habría que realizar el *diagnóstico diferencial* con otros organismos que pueden provocar diarrea en estos animales tales como los parásitos *Giardia* (Hackett y Lappin, 2003), *Isospora* y *Cryptosporidium* (Batchelor y cols., 2008); los virus *Parvovirus* (Decaro y cols., 2006), *Calicivirus* (Mochizuki y cols., 1993) y *Norovirus* (Martella y cols., 2008); y las bacterias *Clostridium difficile* (Berry y Levett, 1986), *Escherichia coli* (Sancak y cols., 2004), *Brachyspira* (Hidalgo y cols., 2010) y *Salmonella* (Polpakdee y cols., 2012). Sin embargo, del mismo modo que ocurre con *Campylobacter*, para muchos de estos agentes aún no se ha establecido su papel primario como responsables de la enfermedad en perros (Stavisky y cols., 2011).

Asimismo, son muchos los microorganismos que pueden producir enfermedades diarreicas en humanos; de modo que es necesario establecer el diagnóstico diferencial entre *Campylobacter* y los principales agentes bacterianos como *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* (WHO, 2009). Otras bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* o *Klebsiella*, así como parásitos como *Giardia*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium* y *Entamoeba histolytica* también pueden causar procesos entéricos en humanos (WHO, 2009). Respecto a los virus, los rotavirus son el grupo de mayor importancia (Glass y cols., 2006), aunque también pueden ser responsables los adenovirus, astrovirus, calicivirus y norovirus (Clark y McKendrick, 2004).

Respecto a *diagnóstico laboratorial*, a pesar de que los avances tecnológicos han aumentado la velocidad de las pruebas diagnósticas de muchas enfermedades, para el aislamiento de bacterias como *Campylobacter*, el coprocultivo realizado a partir de muestras de heces sigue siendo el método que se utiliza de forma rutinaria en la mayoría de los laboratorios de microbiología (Abubakar y cols., 2007).

Del mismo modo, la toma de muestras también puede realizarse a partir de ciegos de los broilers tanto en granja (Sasaki y cols., 2013) como en matadero (Hue y cols., 2011; Sasaki y cols., 2013), donde además pueden tomarse muestras de la piel del cuello (Malher y cols., 2011), así como hisopos de la superficie de las canales (Ellerbroek y cols., 2010) o muestras de carne de pollo, siendo 25 gramos suficientes para la detección de *Campylobacter* (Nordic Committee on Food Analysis, 2007).

En humanos además, cuando las características clínicas y el perfil inmunológico del paciente hacen sospechar de una posible bacteriemia es recomendable tomar también una muestra de sangre (Bolton, 2001).

En cuanto a las muestras ambientales se pueden utilizar calzas para muestrear los alrededores de las granjas y esponjas estériles o hisopos para las instalaciones de granjas y mataderos (Ellerbroek y cols., 2010; Kudirkienė y cols., 2011; Melero y cols., 2012).

El transporte de las muestras de heces hasta el laboratorio puede realizarse en recipientes convencionales si se prevé que lleguen en el mismo día al laboratorio, en cambio, si tardan más de un día, las heces deben introducirse en un medio de transporte como el medio *Cary Blair* y mantenerse en refrigeración. El medio de transporte también debe utilizarse para los hisopos rectales y cloacales, así como de la superficie de las canales y ambientales, respetando las condiciones de refrigeración que deben mantenerse hasta su procesamiento en el laboratorio en 24-48 horas (Bolton, 2001; Crushell y cols., 2004). De igual manera, las muestras de carne de pollo deben mantenerse en refrigeración hasta su llegada al laboratorio y procesarse en 24-48 horas (Domínguez y cols., 2002; Mateo y cols., 2005; Sasaki y cols., 2013).

La morfología espiral y los movimientos rápidos y de rotación característicos de *Campylobacter* permiten su identificación directa mediante el examen microscópico de las heces frescas, ya sea con la tinción de Gram o con el microscopio de contraste de fases (Butzler, 2004).

El aislamiento de las especies termotolerantes de *Campylobacter* a partir de heces o hisopos rectales/cloacales puede realizarse fácilmente mediante la siembra directa en un medio selectivo, que además de otros nutrientes, contienen antibióticos capaces de inhibir el crecimiento de la flora saprofita del intestino (Endtz y cols., 1991). Entre los medios más utilizados se encuentran el agar *Preston*, el carbón cefoperazona desoxicolato (CCDA) y el agar *Butzler* (Silva y cols., 2011); a continuación las bacterias deben incubarse durante 48-72 horas

a 42 °C en condiciones de microaerofilia (Butzler, 2004). Para muestras con un número bajo de bacterias, se recomienda la filtración o el empleo previo de medios de enriquecimiento como los caldos selectivos *Bolton* o *Preston* para posteriormente realizar el cultivo en el agar selectivo, mejorando así el aislamiento de *Campylobacter* (Baylis y cols., 2000; Hu y Kuo, 2011).

Concretamente, el uso del CCDA y la incubación en microaerofilia a 42 °C es por lo general, la metodología de elección pues permite el aislamiento de más cepas de *Campylobacter* (Zanetti y cols., 1996). El agar CAT no es más que una modificación en los niveles de antibióticos del anterior permitiendo el aislamiento de un rango más amplio de cepas de *Campylobacter*, sobre todo de *C. upsaliensis* (Corry y Atabay, 1997).

El empleo de estos antibióticos como suplemento en los medios selectivos, así como la temperatura de incubación de 42 °C son condiciones que pueden inhibir el crecimiento de algunas especies de *Campylobacter* menos frecuentes, recomendándose las técnicas de filtración, la siembra en medios no selectivos y temperaturas de incubación de 37 °C y 42 °C de forma simultánea cuando exista la sospecha de la presencia en una muestra de especies de *Campylobacter* no habituales (Bolton, 2001).

Estos medios selectivos también pueden utilizarse para el aislamiento de *Campylobacter* a partir de muestras ambientales, agua o alimentos (Baylis y cols., 2000; Hu y Kuo, 2011; Ugarte-Ruiz y cols., 2012). No obstante, en los últimos años se ha desarrollado un método internacional que estandariza en una norma ISO tanto el aislamiento como la cuantificación de las cepas de *Campylobacter* en los productos destinados al consumo humano o para la alimentación de los animales, así como para las muestras ambientales en el área de producción alimentaria y manipulación de alimentos. La norma no incluye las muestras intestinales, de heces o hisopos rectales/cloacales. Este protocolo utiliza el CCDA modificado, recomendando el uso del caldo *Bolton* como medio de enriquecimiento previo (ISO, 2006a; ISO, 2006b).

Asimismo, en el año 2007 el Comité Nórdico sobre el Análisis de los Alimentos (Nordic Committee on Food Analysis) elaboró otro protocolo estándar para el aislamiento y cuantificación de cepas de *Campylobacter* termotolerantes en alimentos (NMKL 119, 3. Ed., 2007), demostrándose su eficacia siempre que la concentración de *Campylobacter* en la muestra sea superior a 25 UFC/gramo (Rosenquist y cols., 2007).

Actualmente existen otros métodos más rápidos para la detección de *Campylobacter*, si bien, Kulkarni y cols. (2002) determinaron que el método óptimo sigue siendo el uso de medios selectivos. De esta forma, tras el primoaislamiento en estos medios, la identificación de *Campylobacter* se lleva a cabo mediante la descripción de la morfología de la colonia, la tinción de Gram, la motilidad y pruebas bioquímicas como la de la oxidasa, catalasa o hidrólisis del hipurato (Butzler, 2004; ISO 2006a). Esta última se emplea para diferenciar las cepas de *C. jejuni* de otras especies de *Campylobacter* pues *C. jejuni* es la única especie hipurato positiva (Bolton, 2001), aunque la existencia de algunas cepas hipurato negativas hacen que esta diferenciación bioquímica sea limitada (Roop y cols., 1984; Nicholson y Patton, 1993).

Por otra parte, existen kits comerciales, como la técnica de aglutinación en látex, que detectan de forma directa los antígenos de *Campylobacter* tanto a partir de heces como de colonias aisladas, utilizándose para confirmar si un aislamiento pertenece al género *Campylobacter* (Hindiye y cols., 2000; Dediste y cols., 2003).

No obstante, para llevar a cabo la identificación de las cepas de *Campylobacter* existen diferentes métodos fáciles de realizar y más rápidos que los métodos bioquímicos convencionales entre los que destacan las técnicas moleculares (Frost y cols., 1998; Frost y cols., 1999; Wassenaar y Newell, 2000).

En este sentido, una de las técnicas más usadas para el diagnóstico rápido de *Campylobacter* es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica reduce significativamente el tiempo de detección de *Campylobacter* en comparación con los métodos de cultivo tradicionales (Abubakar y cols., 2007). Actualmente se han descrito diversos cebadores capaces de unirse de forma específica a diferentes genes permitiendo la identificación de distintas especies de *Campylobacter* en un solo día (Butzler, 2004) incluyendo algunas especies poco comunes y difíciles de cultivar (Kulkarni y cols., 2002). Además, la PCR es más eficaz para la confirmación de los resultados pues las reacciones fenotípicas pueden ser variables y difíciles de leer (Silva y cols., 2011).

Desafortunadamente se trata de un método caro que no proporciona el aislamiento del organismo para poder realizar su tipificación o las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Butzler, 2004). Asimismo, los métodos moleculares convencionales no son adecuados para la identificación de las subespecies de *Campylobacter*, debiendo optar en estos casos por una PCR múltiple basada en el locus *nap* capaz de diferenciar las subespecies de *C. jejuni* (Miller y cols., 2007).

Otra técnica adecuada para diferenciar las distintas especies de *Campylobacter* es el análisis de la secuencia del rRNA 16S mediante PCR y enzimas de restricción (PCR-RFLP), (Marshall y cols., 1999) para posteriormente, compararlas con las secuencias existentes en una base de datos internacional (Gorkiewicz y cols., 2003). No obstante, el hecho de que cepas de diferentes especies puedan tener una secuencia de rRNA 16S idéntica o cepas de la misma especie puedan presentar hasta un tres por ciento de variabilidad entre ellas (Stackebrandt y Goebel, 1994) hacen que esta técnica se utilice en menor medida para la identificación de cepas a nivel de especie y se destine fundamentalmente al diseño de *primers* y sondas específicas de especie, grupo o género necesarios en PCR y ensayos de hibridación (Lübeck y cols., 2003). Concretamente, existe un protocolo de hibridación rápida capaz de detectar *C. jejuni* directamente en muestras de alimentos mediante una sonda de ADN de 1475 pb marcada con cromógeno (Ng y cols., 1997).

Otras técnicas utilizadas en la identificación y tipificación de las especies que comprende el género *Campylobacter* han sido la amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD) (Adzitey y cols., 2012), la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) (Ribot y cols., 2001) y la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) (Duim y cols., 1999 y 2001; Aabenhus y cols., 2005; Keller y cols., 2007). Por otra parte, la técnica genética de tipificación de secuencias multilocus (MLST) se ha utilizado para comparar las cepas de *Campylobacter* aisladas a partir de animales (ganado bovino, ovejas, aves domésticas, cerdos, perros y gatos), del medio ambiente y de personas con campilobacteriosis (Manning y cols., 2003).

Además, las técnicas serológicas como el ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) son métodos de uso reciente en el diagnóstico rápido de campilobacteriosis reduciendo el tiempo de detección de *Campylobacter* en muestras de heces o alimentos respecto a los coprocultivos (Abubakar y cols., 2007). Asimismo, también se ha podido detectar *Campylobacter* en agua mediante un sistema de detección inmunoenzimático (Sails y cols., 2002) o el uso de anticuerpos monoclonales (Buswell y cols., 1998).

La serología en humanos está indicada cuando a pesar de obtener cultivos negativos, se sospeche de una infección con *Campylobacter* en personas que presentan complicaciones como artritis reactiva o síndrome de *Guillain-Barré* (Cawthraw y cols., 2002).

Una de las últimas herramientas que está revolucionando el diagnóstico microbiológico es la conocida como *MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry)*. Esta técnica supone un enfoque radicalmente nuevo y metódicamente sencillo que reduce en gran medida el coste de los consumibles y el tiempo empleado en el diagnóstico (Seng y cols., 2009; Sauer y Kliem, 2010).

A diferencia de los métodos convencionales de identificación basados en criterios bioquímicos que requieren el aislamiento previo de las bacterias e incubaciones de larga duración, MALDI-TOF-MS es un método rápido y preciso que puede identificar microorganismos en cuestión de minutos a partir de las colonias en los medios de cultivos mediante la dando ionización de las proteínas ribosómicas que proporcionan un espectro proteico único específico de género, especie e incluso subespecie.

Diversos estudios han evaluado el potencial de MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología, encontrándose una tasa de identificación cercana al cien por cien en el caso del género *Campylobacter* (Martiny y cols., 2011) con la mayor dificultad en la diferenciación de *C. upsaliensis* y *C. helveticus* (Mandrell y cols., 2005).

LUCHA

Puesto que los broilers actúan como reservorios de *Campylobacter* sin desarrollar la enfermedad (OIE, 2008), es un error plantear la aplicación de un *tratamiento* antibiótico a fin de eliminar este microorganismo del individuo, sobre todo cuando se trata de animales destinados al consumo humano, pues el uso indiscriminado de antibióticos se ha señalado como una de las causas del incremento de las resistencias frente a los antimicrobianos (Moore y cols., 2006).

Afortunadamente, la mayoría de las personas con campilobacteriosis se recuperan simplemente tras la administración de un tratamiento sintomático, reponiendo los fluidos y electrolitos perdidos, sin necesidad de ningún tratamiento específico (Silva y cols., 2011). La terapia antimicrobiana se reserva para los casos más graves, siendo los macrólidos como la eritromicina y las fluoroquinolonas como la ciprofloxacina los antibióticos de elección (Blaser, 1997; Allos, 2001). Otros antibióticos como la gentamicina, tetraciclina, clindamicina y ampicilina son la alternativa para las infecciones sistémicas (Blaser, 2000; Aarestrup y Engberg, 2001).

Por otro lado, con el objeto de reducir la carga bacteriana de las canales de broilers, los mataderos llevan a cabo de forma rutinaria diversos tratamientos que pueden ser físicos o químicos. En este sentido, aunque el empleo de productos químicos no está aprobado en la UE (EFSA Journal, 2011), en la bibliografía encontramos diversos estudios sobre los efectos de distintos productos químicos, demostrándose como el ácido láctico (Bolder, 2007; Riedel y cols., 2009), el clorito de sodio acidificado (Kemp y cols., 2001; Bashor y cols., 2004; Bolder, 2007; Corry y cols., 2008), el dióxido de cloro (Bolder, 2007), el fosfato trisódico (Slavik y cols., 1994; Whyte y cols., 2001; Bashor y cols., 2004; Corry y cols., 2008), el agua electrolizada ácida oxidante (Kim y cols., 2005) y el ácido peracético (Bauermeister y cols., 2008) reducen en mayor o menor medida el número de *Campylobacter* en las canales de pollo.

Los métodos de descontaminación física de las canales, a excepción de la irradiación, si pueden ser utilizados en todos los países de la UE (EFSA Journal, 2011). Así, la congelación durante unos días (Sandberg y cols., 2005; Georgsson y cols., 2006, Rosenquist y cols., 2006), la congelación durante tres semanas (Sandberg y cols., 2005; Georgsson y cols., 2006), la inmersión en agua caliente (Corry y cols., 2006), la cocción (Whyte y cols., 2006), la congelación de la superficie (Boysen y Rosenquist, 2009), el vapor (Whyte y cols., 2003) y el vapor ultrasonido (Boysen y Rosenquist, 2009) se pueden utilizar para disminuir el número de *Campylobacter*.

Otros métodos como la irradiación o la cocción a nivel industrial pueden reducir el cien por cien del riesgo de transmisión en la cadena alimentaria. Del mismo modo, la congelación de las canales durante dos o tres semanas supone la disminución del noventa por ciento del riesgo y entre un cincuenta y un noventa por ciento la congelación durante dos o tres días, la inmersión en agua caliente o la descontaminación química (EFSA Journal, 2011).

La implementación de medidas de *prevención* que eviten en las granjas de broilers la colonización de los lotes de pollos, así como la contaminación de las canales en el matadero son fundamentales en la prevención de la infección en las personas, más aún si tenemos en cuenta que los casos de campilobacteriosis humana no han dejado de incrementarse en los últimos años (EFSA Journal, 2013). En este sentido, cabe destacar como a pesar de la elevada prevalencia de lotes y canales de pollo contaminados con este organismo en la UE cada año, en la actualidad no existe una legislación europea específica con relación a los niveles de *Campylobacter* permitidos en los alimentos (EFSA Journal, 2010; EFSA Journal, 2012a).

Hasta la fecha, los estudios para prevenir o reducir el número de *Campylobacter* en el intestino de los animales se centran en los broilers, puesto que son la principal fuente de infección para los humanos (Sheppard y cols., 2009), no encontrando ninguna referencia sobre estudios de quimioprofilaxis en perros domésticos.

Como alternativa al uso de antibióticos para prevenir la infección en los broilers se recomienda el empleo de aditivos químicos o biológicos en el pienso y el agua (EFSA Journal, 2011). De esta forma, se ha demostrado la eficacia en la reducción del número de *Campylobacter* en las heces de los animales mediante el butirato (Van Deun y cols., 2008c), la aplicación de ácidos orgánicos en el agua de bebida (Byrd y cols., 2001; Chaveerach y cols., 2004; Thormar y cols., 2006) o el ácido caprílico (De los Santos y cols., 2010). En cambio, no se ha observado que la adición de ácido caproico, caprílico o cáprico en el alimento disminuya la carga de *Campylobacter* en las heces (Hermans y cols., 2010) como tampoco son eficaces los ácidos grasos de cadena corta (Van Deun y cols., 2008c). Asimismo, el alimento suplementado con ácido fórmico combinado con sorbato de potasio puede reducir o prevenir la colonización de *Campylobacter* en los pollos (Skanseng y cols. 2010).

Respecto al empleo de probióticos, hay estudios que han demostrado una reducción significativa de *Campylobacter* en las heces de broilers debido a la exclusión competitiva de una determinada flora bacteriana (Mead y cols., 1996; Stern y cols., 2001). Además, para reducir el número de *Campylobacter* en el intestino de los broilers antes del sacrificio en el matadero pueden ser efectiva la aplicación de bacteriocinas y bacteriofagos (EFSA Journal, 2011). Las bacteriocinas son toxinas proteicas producidas por las bacterias para inhibir el crecimiento de cepas bacterianas similares o estrechamente relacionadas; en la actualidad existen cuatro bacteriocinas purificadas para reducir la infección de los broilers con *Campylobacter*, éstas son la SRCAM 602 de *Paenibacillus polymyxa* NRRL B-30509 (Stern y cols, 2005), la OR-7 de *Lactobacillus salivarius* (Stern y cols., 2006), y la E-760 y E 50-52 de *Enterococcus* spp. (Line y cols., 2008; Svetoch y cols., 2008). De esta forma, si estas bacteriocinas son añadidas en el alimento de los broilers (Stern y cols., 2005; Stern y cols., 2006; Line y cols., 2008) o en el agua de bebida (Svetoch y cols., 2008) se produce una reducción del número de *Campylobacter* en el intestino hasta niveles indetectables ($< 2 \log_{10}$ UFC/g). Sin embargo, aunque Svetoch y cols. (2008) han sugerido que el tratamiento con bacteriocinas puede eliminar por completo *Campylobacter* del tracto digestivo de los broilers, aún son escasos los estudios experimentales que se han llevado a cabo con estas

sustancias, siendo necesarios ensayos de campo a gran escala para determinar la factibilidad del tratamiento con bacteriocinas.

Del mismo modo, la actividad lítica de los bacteriófagos puede servir para eliminar *Campylobacter* del intestino de los broilers. Los fagos se unen a la célula bacteriana a través de receptores como proteínas o lipooligosacáridos, penetrando en ella para finalmente multiplicarse. La progenie de fagos son liberados mediante la lisis de la bacteria para infectar a continuación a otras bacterias. Además, en contraste con los antimicrobianos, los fagos son organismos que evolucionan rápidamente junto a sus bacterias hospedadoras (EFSA Journal, 2011). Así, con la administración de bacteriófagos dos o tres días antes del sacrificio, los niveles de *Campylobacter* en el ciego pueden reducirse hasta 0,5-5 log₁₀ (El-Shibiny y cols., 2009b; Loc Carrillo y cols., 2005; Wagenaar y cols., 2005). Sin embargo, estas terapias se encuentran en las primeras etapas de su desarrollo siendo actualmente muy difícil evaluar su efectividad (Scott y cols., 2007).

La vacunación en broilers podría reducir o incluso prevenir la infección de estos animales con *Campylobacter*, afectando en ambos casos al número de organismos en la cadena alimentaria y en el medio ambiente (EFSA Journal, 2011). Desde que en 1990 Stern y cols. demostraran por primera vez en broilers que los anticuerpos contra *Campylobacter* inducidos por la vacunación podían tener propiedades de protección, se han probado distintas estrategias de vacunación, centradas sobre todo en la flagelina como antígeno protector. También se han desarrollado vacunas con células enteras y otros antígenos (De Zoete y cols., 2007) y recientemente se ha obtenido la primera vacuna con el parásito *Eimeria* como vector para la inducción de inmunidad protectora en broilers (Clark y cols., 2012).

Sin embargo, los resultados hasta el momento no han sido satisfactorios pues la mayoría de estos estudios han resultado poco reproducibles y la protección inducida por la vacunación no ha reducido la infección en los broilers con *Campylobacter*. Así, la investigación vacunal actual se centra en el estudio de antígenos protectores alternativos y nuevos enfoques, tales como adyuvantes de la mucosa o citoquinas que estimulen el sistema inmune de los broilers (EFSA Journal, 2011). Respecto al desarrollo de vacunas contra *Campylobacter* en perros domésticos, no existen actualmente datos publicados disponibles.

En humanos, no hay ninguna vacuna disponible hasta la fecha, sospechándose que la inmunidad frente a *Campylobacter* pueda ser específica de cada cepa, si bien aún no se han

identificado los antígenos que confieren la inmunidad protectora (Baqar y cols., 2001). Por otra parte, la falta de entendimiento sobre el mecanismo del síndrome de *Guillain-Barré* es otro obstáculo para el desarrollo de una vacuna frente a *Campylobacter* (Yuki, 2001). No obstante, los estudios realizados por diversos investigadores evaluando la eficacia de diferentes vacunas en ratones desarrolladas con bacterias enteras inactivadas (Baqar y cols., 1995), flagelinas (Lee y cols., 1999) y proteínas FspA1 secretadas por los flagelos (Baqar y cols., 2008) combinadas con la enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* como adyuvante de la mucosa, han mostrado cierta eficacia en la protección contra *Campylobacter*, presentándose como posibles candidatas para su aplicación en humanos.

De forma general se acepta que cualquier medida de control frente a *Campylobacter* debe comenzar durante la etapa de producción primaria pues los beneficios que se obtienen para la salud pública son mayores que si el control se realiza posteriormente en la cadena alimentaria ya que esta bacteria podría extenderse desde las granjas a los humanos mediante otras vías diferentes al consumo de la carne de pollo (EFSA Journal, 2011).

Cuando las medidas de bioseguridad en producción primaria se implementan de forma estricta se evita que *Campylobacter* u otros agentes patógenos sean transportados desde fuera hasta dentro de la nave. Sin embargo, en la práctica es muy difícil obtener y mantener tal nivel de bioseguridad; la vulneración pasiva de la bioseguridad se produce a través del agua, el alimento o el aire y la activa mediante los insectos o los humanos (EFSA Journal, 2011). De esta manera, una vez que *Campylobacter* entra en la nave de broilers e infecta a los primeros animales, se extiende de forma muy rápida, infectando prácticamente al cien por cien de los animales en una semana (Katsma y cols., 2007).

En este sentido, las barreras higiénicas tales como la presencia de pediluvios e instalaciones para el lavado de las manos a la entrada de la nave, así como el cambio de calzado y el uso de ropa específica son una parte muy importante en las medidas de bioseguridad pudiendo disminuir el riesgo de infección del lote en un cincuenta por ciento (Berndtson y cols., 1996b; Van de Giessen y cols., 1998; Evans y Sayers, 2000).

Del mismo modo, la prevención de la entrada de insectos en el interior de la nave también debe estar presente a la hora de aplicar las medidas de bioseguridad pues se ha demostrado como la exclusión de los insectos voladores en las naves mediante el uso de mosquiteras

reduce significativamente la posibilidad de que un lote de broilers sea positivo durante el pico estacional (Hald y cols., 2007).

Otro factor relacionado con la bioseguridad de las explotaciones es la calidad del agua de bebida. Por ello, es necesario llevar a cabo una correcta desinfección tanto del agua suministrada a los broilers como de sus instalaciones, importantes factores de riesgo para la infección de estos animales en la granja (Evans y Sayers, 2000; Arsenault y cols., 2007b; Lyngstad y cols., 2008).

Asimismo, se ha investigado el efecto del linaje en la susceptibilidad de los broilers frente a la infección con *Campylobacter* (King y cols., 1993; Boyd y cols., 2005) sugiriéndose que la cría selectiva de broilers resistentes a *Campylobacter* es una práctica que se podría utilizar en el control de la infección (Kaiser y cols., 2009).

Por otro lado, si tenemos en cuenta que la prevalencia de la infección en los lotes de broilers está directamente relacionada con la edad, el sacrificio en edades más tempranas debería suponer una intervención efectiva que reduciría el riesgo de infección de los broilers hasta en un cincuenta por ciento, siempre que la edad de sacrificio de los animales sea como máximo de 28 días (Kapperud y cols., 1993; Berndtson y cols., 1996b; EFSA Journal, 2011). De igual forma, se ha señalado que si la despoblación parcial de los lotes se realiza en la granja de forma discontinua, el riesgo de infección de los broilers se podría reducir en un 25 por ciento (Adkin y cols., 2006; Hansson y cols., 2010; EFSA Journal, 2011).

Otra práctica habitual consiste en la retirada de la alimentación a los broilers antes del sacrificio; de esta forma se reduce la defecación durante el transporte, disminuyendo la contaminación fecal durante el desplumado mientras se facilita la evisceración en la planta de procesamiento (EFSA Journal, 2011). En este sentido, la Directiva 2007/43/CE, del Consejo, limita la retirada del alimento en un máximo de doce horas antes de la hora prevista para el sacrificio en el matadero. Los resultados de esta medida respecto a la disminución del número de *Campylobacter* en el medio ambiente y en las canales son contradictorios, mientras que algunos autores han constatado esta disminución (Bilgili, 2002), otros han encontrado un aumento de la contaminación de las canales (Northcutt y cols., 2003; Keener y cols., 2004). No obstante, para reducir la probabilidad de la contaminación de las canales se recomienda el sacrificio de las aves entre ocho y doce horas después de la retirada del alimento, pues más de doce horas podría causar deterioro en las vísceras además de un

incremento en la fluidez del contenido gastrointestinal que aumentaría la contaminación fecal de las canales (Bilgili y Hess, 1997; Zuidhof y cols., 2004; Delezie y cols., 2006).

También, las cajas utilizadas para el transporte de los broilers desde la granja al matadero deben ser lavadas y desinfectadas después de cada uso para reducir así la contaminación cruzada entre lotes positivos y negativos a *Campylobacter* dentro de la granja, a la vez que se consigue disminuir la contaminación en las instalaciones del matadero (Allen y cols., 2008).

Por otro lado, para minimizar la contaminación y el crecimiento de patógenos dentro del matadero debe prestarse atención a las medidas de higiene durante el sacrificio, fundamentalmente al diseño de las instalaciones (Luning y cols., 2008). Así, en un matadero de broilers, la contaminación ocurre sobre todo en el proceso de evisceración, especialmente si la máquina no está adaptada a los diferentes tamaños de las canales de un lote (Figuroa y cols., 2009). En países como Noruega, Islandia y Dinamarca, además se realiza un sacrificio programado, identificando los lotes positivos antes de ser sacrificados y sometiendo a las canales de esos lotes a tratamientos como la congelación (EFSA Journal, 2011). Asimismo, el sacrificio de los lotes positivos después de los negativos podría evitar la contaminación cruzada, aunque Elvers y cols. (2011) demostraron que la aplicación de esta medida tiene un efecto limitado pues los lotes negativos precedidos por lotes positivos se contaminan con cepas de *Campylobacter* distintas a las aisladas a partir del lote positivo previo; además se ha descrito que el orden en el sacrificio no repercute en el número de casos de campilobacteriosis humana (Havelaar y cols., 2007). Por otra parte, las modificaciones durante el procesado en el matadero podrían disminuir el número de *Campylobacter* en las canales. Así, Berrang y cols. (2011) observaron una reducción en la contaminación de las canales con *Campylobacter* si la evisceración se realizaba antes del escaldado. Además, es muy importante la educación de los manipuladores de alimentos en las prácticas de higiene, centrándose principalmente en la prevención de la contaminación cruzada durante la manipulación de la carne de pollo (EFSA Journal, 2011).

En cuanto a los perros domésticos, para evitar la transmisión de la infección a las personas, se recomienda tener especial cuidado de la higiene personal si se convive con un perro. Asimismo, se puede evitar que estos animales se infecten y sean reservorios de un mayor número de *Campylobacter* si su alimentación no incluye carne cruda (Rossi y cols., 2008; Lenz y cols., 2009).

Se espera que la aplicación estricta de la bioseguridad en la producción primaria, así como de Buenas Prácticas de Manipulación (BPM) y Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC) durante el procesado en el matadero, reduzca el nivel de infección de los broilers con *Campylobacter* y la contaminación de las canales y la carne como producto final (EFSA Journal, 2011). No obstante, aunque esta aplicación podría reducir considerablemente el riesgo para la salud pública, la erradicación de *Campylobacter* hoy en día resulta impensable pues a excepción de las medidas de bioseguridad, las demás medidas de intervención están todavía en desarrollo.

Recientemente, la comisión del *Codex Alimentarius* ha elaborado una serie de directrices para el control de *Campylobacter* y *Salmonella* en la carne de pollo; a pesar de no establecer límites cuantitativos para *Campylobacter*, el documento proporciona una base para que los países establezcan medidas de control apropiadas a su esquema nacional (Codex Alimentarius, 2011). En la actualidad no existe en la UE ninguna normativa que establezca los niveles de *Campylobacter* permitidos en los alimentos; no obstante, en teoría se podría reducir el riesgo para la salud pública entre un cincuenta y un noventa por ciento en la UE si todos los lotes que se venden como carne fresca cumplieran el criterio microbiológico de tener unos límites críticos de 1.000 y 500 UFC/gramo en la piel cuello y pechuga, respectivamente, estimándose que entre el 15 y el 45 por ciento de los lotes examinados en la UE en el año 2008 no cumplían estos criterios (EFSA Journal, 2011).

En países como Reino Unido se han desarrollado estrategias frente a las enfermedades transmitidas por los alimentos, siendo su principal propósito la lucha contra la contaminación de la carne de pollo con *Campylobacter*, teniendo como objetivo que solo un diez por ciento de la carne fresca esté contaminada con más de 1.000 UFC en abril de 2015 (EFSA Journal, 2012a). También en Nueva Zelanda se han llevado a cabo intervenciones reguladas y voluntarias para reducir la infección de *Campylobacter* en aves domésticas, observándose un marcado descenso en los casos de campilobacteriosis humana tras la aplicación de estas medidas (Sears y cols., 2011).

OBJECTIVES/OBJETIVOS

The main objective of this PhD thesis was the performance of an etiologic, epidemiological and antimicrobial susceptibility study on the infection with species in the genus *Campylobacter* in broiler farms and slaughterhouse, as well as in dogs from veterinary clinics, in Andalusia.

This main objective will be developed through the next specific objectives:

- To determine the prevalence of infection with different species in the genus *Campylobacter* in broiler flocks from farms in Andalusia.
- To identify the risk factors potentially associated with *Campylobacter* spp. in broiler flocks from farms in Andalusia.
- To evaluate the frequency of contamination with *Campylobacter* spp. in several potential sources of infection inside the broiler house.
- To perform the monitoring of the infection with species in the genus *Campylobacter* in broiler farms along the production cycle.
- To assess the contamination level with different species in the genus *Campylobacter* from carcass and chicken meat along the processing at the slaughterhouse and quartering room.
- To determine the main critical points for the contamination of chicken meat with species belonging to the genus *Campylobacter* in slaughterhouse and quartering room.
- To determine the prevalence of infection with different species in the genus *Campylobacter* in domestic dogs from veterinary clinics in Cordoba.
- To identify the risk factors potentially involved with *Campylobacter* spp. infection in domestic dogs from veterinary clinics in Cordoba.
- To establish the antimicrobial susceptibility for different species belonging to *Campylobacter* genus isolated from broilers, chicken meat and domestic dogs, and to obtain the frequency of multi-drug resistance for the isolates tested.

El objetivo general de este trabajo de investigación fue la realización de un estudio etiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana de la infección con especies del género *Campylobacter* en granjas y matadero de broilers, así como en perros de clínicas veterinarias, en Andalucía.

La consecución de dicho objetivo se desarrolló mediante los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la prevalencia de infección de las distintas especies del género *Campylobacter* por lotes en granjas de broilers de Andalucía.
- Identificar los factores de riesgo potencialmente asociados con la infección con *Campylobacter* spp. en lotes de broilers en granjas de Andalucía.
- Evaluar la frecuencia de contaminación con *Campylobacter* spp. en distintas fuentes potenciales de infección del interior de la nave de broilers.
- Realizar el seguimiento de la infección con especies del género *Campylobacter* en granjas de broilers a lo largo de su ciclo productivo.
- Evaluar el nivel de contaminación con distintas especies del género *Campylobacter* de las canales y carne de pollo a lo largo del procesado en matadero y sala de despiece.
- Determinar los principales puntos críticos para la contaminación de la carne de pollo con las distintas especies de *Campylobacter* en matadero y sala de despiece.
- Determinar la prevalencia de infección de las distintas especies del género *Campylobacter* en perros domésticos de clínicas veterinarias en Córdoba.
- Identificar los factores de riesgo potencialmente asociados con la infección con *Campylobacter* spp. en perros domésticos de clínicas veterinarias de Córdoba.
- Establecer la sensibilidad antimicrobiana de las distintas especies de *Campylobacter* aisladas a partir de broilers, carne de pollo y perros domésticos y determinar la frecuencia de multirresistencia en los aislamientos analizados.

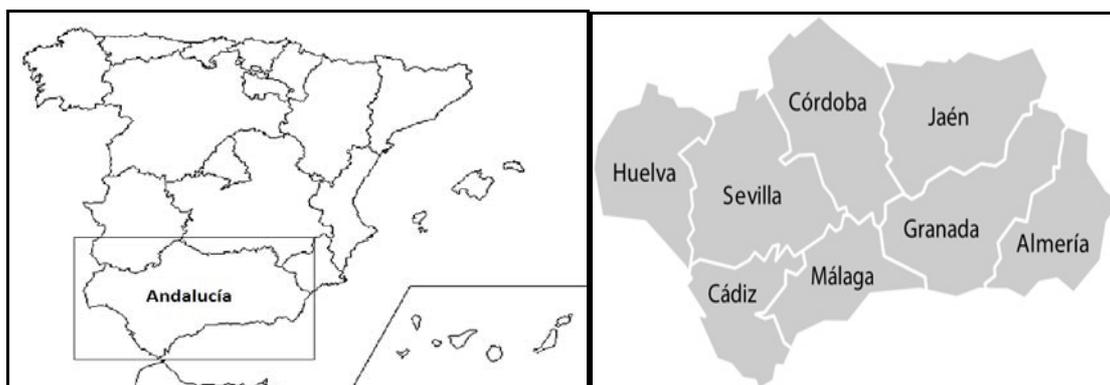
MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIÓN Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Granjas de broilers

El estudio se ha realizado en granjas de broilers situadas en las ocho provincias de Andalucía (sur de España, 36° N-38° 60' N, 1° 75' O-7° 25' O) (Fig. 7) desde abril de 2010 hasta mayo de 2012. Esta Comunidad Autónoma se localiza en el extremo suroeste de la UE y sus límites naturales son, por el sur, el océano Atlántico y el mar Mediterráneo; por el norte, la cadena montañosa de Sierra Morena que la separa de Extremadura y Castilla-La Mancha; por occidente, Portugal; y por oriente, Murcia. Asimismo, Andalucía es la segunda región más extensa de España con 87.597 km², representando el 17,3 por ciento del territorio español y siendo su superficie similar a la de Austria y Portugal y mayor que la de países como Irlanda, Bélgica, Holanda, Dinamarca o Suiza (Junta de Andalucía, 2013).

Figura 7. Mapa de España y Andalucía mostrando cada provincia andaluza



Fuente: www.upf.edu

Fuente: www.juntadeandalucia.es

Según el Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA) del año 2013, Andalucía es la segunda Comunidad Autónoma de España con mayor número de granjas de producción de pollos para carne (812 explotaciones), precedida de Cataluña (1.009 explotaciones). En la siguiente tabla se presenta la producción de broilers en las distintas provincias de Andalucía (tabla 4).

Tabla 4. Distribución provincial de las granjas de broilers en Andalucía en 2011 según la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía

Provincia	Nº de granjas	Nº de pollos de carne
Almería	85	727.637
Cádiz	17	165.619
Córdoba	60	1.086.216
Granada	148	1.626.104
Huelva	292	3.805.798
Jaén	75	831.730
Málaga	27	390.380
Sevilla	203	2.905.255
TOTAL	907	11.538.739

En Andalucía coexisten desde granjas antiguas en las cuales las condiciones de temperatura y humedad dentro de la nave deben ser controladas mediante el control manual de ventanas, ventiladores y sistemas de refrigeración hasta granjas más modernas equipadas con la más alta tecnología para el control automatizado del ambiente del interior de la nave. Las líneas de broilers Ross y Cobb son las más utilizadas y las incubadoras de las que proceden se encuentran en su mayoría en Andalucía y Portugal, habiendo algunos lotes procedentes de Madrid o Barcelona. Asimismo, el pienso para la alimentación de estos animales es fabricado en Andalucía y, por lo general, los programas de profilaxis incluyen la vacunación contra la enfermedad de la bursitis infecciosa (IBD), la rinotraqueitis del pavo (TRT) y la bronquitis infecciosa (IB).

La población en estudio está constituida por aproximadamente 14.105 lotes que se criaron en Andalucía desde abril de 2010 hasta mayo de 2012. El estudio incluyó lotes de broilers procedentes de la mayoría de las empresas integradoras presentes en Andalucía.

La unidad de muestreo en el estudio fue el lote, definido como el conjunto de broilers que ingresan en una nave para su engorde desde el primer día de vida hasta su retirada para el sacrificio. Se desarrolló un muestreo estratificado por provincias, de tal manera que el número de lotes muestreados en cada provincia fuese proporcional al total de la población en cada una de las mismas. Para la determinación del tamaño de la muestra se empleó el programa informático de epidemiología veterinaria WinEpiscope 2.0, de libre difusión y desarrollado por el gobierno de Aragón en colaboración con la Universidad de Zaragoza, la Universidad de Wageningen y la Universidad de Edimburgo, empleando los siguientes parámetros: una población total de 14.105 (número de lotes criados en Andalucía durante el periodo de estudio), una prevalencia esperada del 75 por ciento (Jacobs-Reitsma y cols., 1994; Powell y

cols., 2012), un nivel de confianza del 95 por ciento y un error aceptado del 5 por ciento. De esta forma, se obtuvo como resultado un tamaño de muestra mínimo de 289 lotes necesarios para determinar la prevalencia por lotes de broilers de la infección con especies del género *Campylobacter* en Andalucía.

Dado que un lote positivo se define como aquel en el que al menos un animal presentó la infección, se diseñó otro muestreo para establecer el número mínimo de animales que debían ser muestreados dentro de cada lote para poder concluir si éste se encontraba o no infectado. Para ello, se consideró un tamaño de 5.000 animales (lote con el mínimo número de animales en datos previos), una prevalencia mínima esperada del 40 por ciento (basado en estudios previos en la zona de estudio) y un nivel de confianza del 95 por ciento, lo cual resultó en un número mínimo de muestras requeridas de seis animales por lote, por lo que se tomaron en cada lote un mínimo de seis muestras cloacales, además de las muestras ambientales.

En las granjas se tomaron muestras cloacales mediante torundas estériles con medio de transporte para detectar la infección, se obtuvieron muestras del medio ambiente y se cumplimentó un cuestionario epidemiológico con el fin de determinar aquellos factores que influyen en la infección con agentes del género *Campylobacter* en los lotes de broilers de Andalucía. Tanto la toma de muestras como las entrevistas para recabar los datos de la encuesta epidemiológica fueron realizadas por la propia defensora de la presente tesis.

A continuación se detallan las variables incluidas en la encuesta epidemiológica.

- **ÉPOCA EN EL QUE SE REALIZÓ EL MUESTREO**

Estación del año: otoño, invierno, primavera, verano.

- **DESCRIPCIÓN DE LA GRANJA**

Provincia: lugar en el que se localiza la granja (Almería, Cádiz, Córdoba, Granada, Huelva, Jaén, Málaga o Sevilla).

Número de broilers: número de animales criados en la granja en cada camada.

Número de naves: número de recintos en la granja para criar cada uno de los lotes.

Otras granjas de broilers a <1 Km.: presencia de otras granjas de pollos a menos de un kilómetro de distancia de la granja incluida en el muestreo.

Granjas de pavos a <1 Km.: presencia de granjas de pavos a menos de un kilómetro de distancia de la granja incluida en el muestreo.

Granjas de cerdos a <1 Km.: presencia de granjas de cerdos a menos de un kilómetro de distancia de la granja incluida en el muestreo.

Perros/gatos en la granja: presencia de estos animales en la granja como animales de compañía o para proteger la granja.

¿Se alimentan estos perros/gatos con pollos criados en la granja?: si estos animales se alimentan con pollos que mueren durante la cría de un lote en la granja.

Presencia de otros animales en la granja: si en la granja se están criando al mismo tiempo otros animales como ovejas, vacas, caballos o cerdos.

- **INFORMACIÓN DEL LOTE**

Edad de los broilers (días): los días que tienen los pollos en el momento del muestreo.

Número de broilers en el lote: número de animales que hay en cada lote muestreado, lo que sería lo mismo que decir en cada nave.

Antigüedad de la nave (años): número de años desde que la nave fue construida hasta el momento del muestreo.

Lotes/año: lotes criados al año en una nave.

Metros cuadrados de la nave: superficie de la nave en la que se cría el lote muestreado.

Densidad de animales (animales/m²): número de animales por cada metro cuadrado de superficie de la nave en la que se cría el lote muestreado.

Despoblación parcial: si en cada lote criado en la granja se realiza la recogida de una parte de los broilers para su sacrificio, dejando la otra parte de los animales durante unos días más en la nave.

Temperatura de la nave (°C): temperatura a la que se encuentra la nave en el momento de la recogida de las muestras.

Días de vacío sanitario: tiempo del último vacío sanitario realizado en la nave muestreada, es decir, los días transcurridos desde que se recogió el último lote de broilers hasta que se introdujo el nuevo lote en dicha nave.

Tratamiento antibiótico: si los animales han recibido algún tratamiento antibiótico desde que entran en la nave con un día de vida hasta la toma de muestras.

- **PERSONAL DE LA GRANJA**

Número de trabajadores: número de personas que está a cargo de los animales en la granja.

Sexo: si las personas encargadas del cuidado de los animales son hombres o mujeres.

Número de visitas/semana: número de personas que van a la granja cada semana (veterinarios, alimentación, otros).

- **INSTALACIONES DE LA NAVE**

Material de las paredes: material utilizado para la construcción de las paredes de la nave en la que se cría el lote muestreado.

Sistema de calefacción: método que se utiliza para calentar la nave en la que se crían los animales muestreados.

Sistema de refrigeración: método que se utiliza para refrigerar la nave en la que se crían los animales muestreados.

Sistema de ventilación: método que se utiliza para ventilar la nave en la que se crían los animales muestreados.

Control de la ventilación: forma de controlar que una nave esté bien ventilada.

Control de la humedad relativa: si se realiza o no el control de este parámetro dentro de la nave.

Material de las persianas: tipo de persianas de las ventanas que forman parte de la nave.

Manejo de ventanas/persianas: forma de utilización de las ventanas/persianas.

Origen del agua: procedencia del agua suministrada al lote de broilers en una nave.

Tratamiento del agua: si el agua que beben los broilers está tratada con algún producto desinfectante.

Tipo de comederos: modelo de los comederos instalados en la nave.

Líneas de comederos: número de líneas de comederos con la que cuenta una nave.

Tipo de bebederos: modelo de los bebederos instalados en la nave.

Líneas de bebederos: número de líneas de bebederos con la que cuenta una nave.

Origen del pienso: procedencia del pienso suministrado al lote de broilers de una nave.

Tipo de yacija: cama utilizada en la nave para la cría de los broilers.

Tratamiento de la yacija: si la cama recibe algún tratamiento desinfectante.

BIOSEGURIDAD Y PRÁCTICAS DE HIGIENE

Cerca perimetral: si existe un vallado que rodee a toda la granja.

Cámara de entrada: presencia de una habitación anterior a la entrada directa a la nave de los broilers.

Roedores en la nave: si es habitual ver roedores dentro de la nave o si se observan durante el muestreo.

Pájaros en la nave: si es habitual ver pájaros dentro de la nave o si se observan durante el muestreo.

Insectos en la nave: si es habitual ver gran cantidad de insectos dentro de la nave o si se observan durante el muestreo.

Pediluvios en la entrada de la nave: si existe bandejas con desinfectantes o cualquier otro método para sumergir el calzado al entrar y salir de la nave.

Mallas pajareras: presencia de estas redes en las ventanas como protección frente a la entrada de pájaros a la nave.

Silos cerrados: si los silos del pienso se mantienen siempre cerrados.

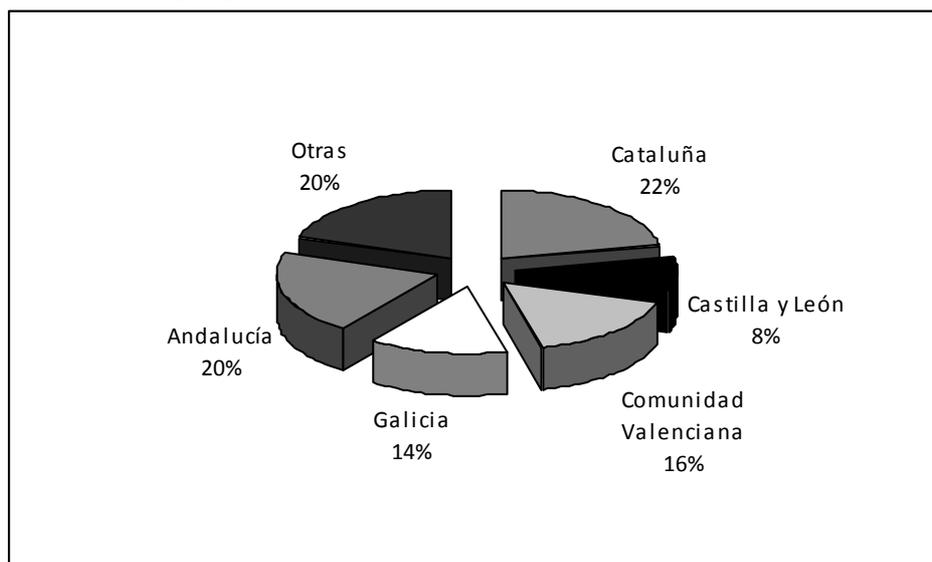
¿Quién desinfecta la nave?: si la desinfección de la nave la realiza el propio granjero o la lleva a cabo una empresa especializada.

Por otra parte, en el año 2012 se realizó el seguimiento de cinco de estas granjas, las cuales fueron elegidas según la disponibilidad de la empresa integradora. Así, con el fin de evaluar la evolución de la infección con *Campylobacter*, el estudio se inició a partir de las naves limpias y desinfectadas durante el período de vacío sanitario y terminó con la llegada de los pollos a matadero. Seguidamente, se volvió a repetir el mismo procedimiento tras la aplicación de algunas medidas de bioseguridad en estas granjas.

Matadero de broilers

España ocupa el undécimo lugar respecto a la producción mundial de carne de ave, siendo Estados Unidos y China los principales productores de carne de pollo (MARM, 2010). En el año 2012 España produjo 1.161 miles de toneladas de carne de pollo, ocupando el segundo lugar en relación a la producción de los países de la UE (12,0%) tras Reino Unido (MAGRAMA, 2013). Asimismo, Andalucía produce el 20 por ciento de la carne de pollo de España, siendo la segunda Comunidad Autónoma con mayor producción tras Cataluña (Fig. 8) (MARM, 2010).

Figura 8. Distribución geográfica de la producción de carne de pollo en España en el año 2008



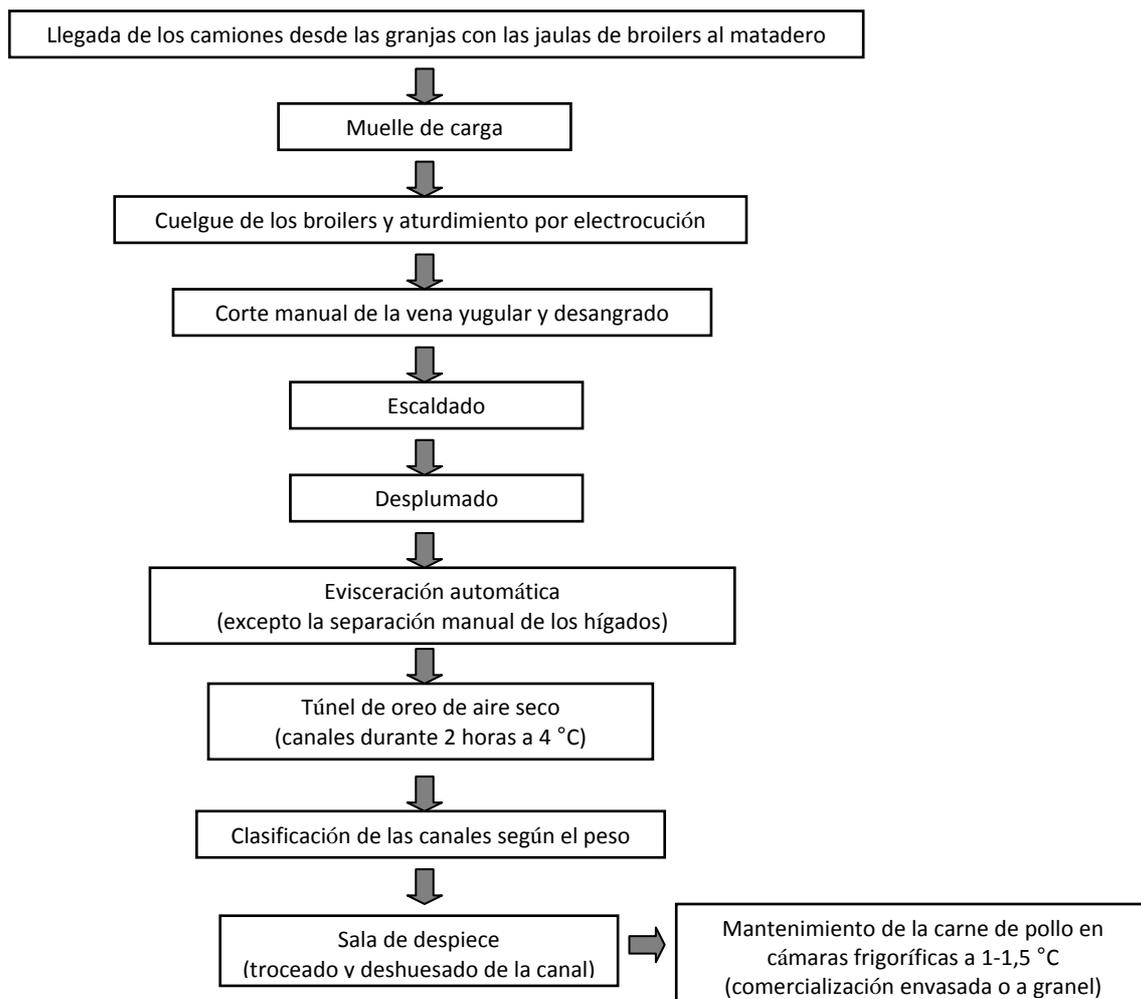
Fuente: MARM, 2010

El estudio en matadero fue llevado a cabo en una planta de sacrificio, procesado y despiece de broilers en Andalucía donde se sacrifican alrededor de 60.000 pollos al día, siendo entre cinco y seis lotes de broilers los sacrificados a lo largo de una jornada. Cabe destacar que más de la mitad (52,2%) de las granjas de las que se tomaron las muestras envían los broilers de forma habitual a este matadero.

En la figura 9 se puede observar el procesado de las aves desde que llegan al matadero hasta la etapa final de envasado del producto.

De este modo, la faena comienza en el *muelle de carga*, un espacio donde se descargan los camiones que transportan las jaulas con los broilers desde las granjas.

Figura 9. Estructura general del trabajo realizado en el matadero desde que un lote de broilers llega desde la granja hasta que su carne está preparada para ser comercializada



Seguidamente, en la *zona de escaldado*, los broilers colgados de las patas son primero aturdidos por electrocución al pasar su cabeza por un baño con agua por la que discurre una corriente de 246 voltios. Tras el aturdimiento, se realiza el corte manual de la vena yugular con el consiguiente desangrado. Una vez desangrados, los broilers ingresan en el baño de escaldado donde el agua esta a una temperatura de 52 °C, que se comprueba cada 30 minutos. A continuación, se realiza el desplume de forma mecánica.

A partir de este punto, pasamos a la *zona de evisceración*, en la que se extraen las vísceras de forma mecánica excepto el hígado, que es separado de forma manual. De ahí, las canales pasan al túnel de oreo de aire seco en el que permanecen durante dos horas a 4 °C.

Transcurridas las dos horas en refrigeración, las canales se llevan a la *zona de clasificación* donde se separan según el peso y, posteriormente, van hasta la *zona de despiece*, obteniéndose así el *producto final* que se mantiene en cámaras con una temperatura de 1-1,5 °C para ser envasado o vendido a granel.

Las muestras fueron obtenidas en quince días diferentes distribuidos en tres años, desde 2010 hasta 2012, según la disponibilidad del matadero. El método de muestreo fue aleatorio sistemático. Asimismo, para determinar la frecuencia de contaminación de las distintas especies de *Campylobacter*, así como estimar los puntos críticos a lo largo del procesado, se tomaron muestras en las diferentes partes del matadero descritas anteriormente: muelle de carga, zona de escaldado, zona de evisceración, zona de clasificado, zona de despiece y producto final (tabla 5).

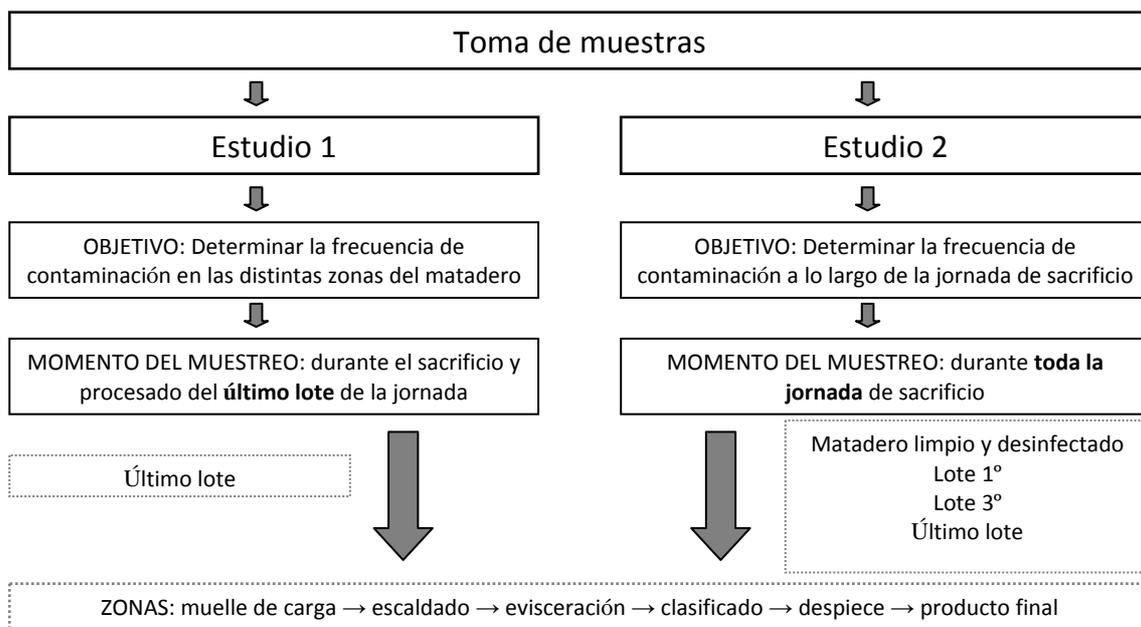
Tabla 5. Descripción del origen de las muestras tomadas en las diferentes zonas del matadero

Zona	Origen de las muestras	
	Muestras de origen animal	Muestras ambientales
Muelle de carga	Cloaca de aves vivas	-
Escaldado	Superficie de las canales después del escaldado y desplumado	Agua de escaldado
Evisceración	Superficie de las canales después de la evisceración	Cortadora de piel del cuello, evisceradora, cuchillos, etc.
Clasificado	Superficie de las canales después de dos horas en refrigeración a 4 °C	Mesas, contenedores, etc.
Despiece	Superficie de las canales enteras y despiezadas en la cadena de despiece	Corta alas, cintas transportadoras, cuchillos, etc.

Producto final Superficie de la carne de pollo almacenada en cámaras frigoríficas a 1-1,5° C después del despiece

En este sentido, se realizaron dos estudios distintos: uno para determinar la frecuencia de contaminación en las distintas zonas del matadero, tomándose las muestras durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada realizado en quince días distintos (*estudio 1*), y otro para evaluar la variación de la frecuencia de contaminación a lo largo de la jornada de sacrificio, tomándose muestras antes del sacrificio (matadero y sala de despiece limpios y desinfectados) y posteriormente, de forma regular, durante el sacrificio y procesado del lote 1º, 3º y último en las mismas zonas del *estudio 1* (*estudio 2*), realizándose este estudio durante tres días (Fig. 10).

Figura 10. Esquematización de la toma de muestras en el matadero/sala de despiece



Perros en clínicas veterinarias

Las condiciones en las que vive el perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) en la zona de estudio (Córdoba, provincia de Andalucía), no difieren de las habituales en otros perros en España y Europa, conviviendo con sus dueños en sus hogares y alimentándose principalmente con productos específicamente preparados para consumo animal, si bien en ocasiones los restos de alimentos o carne cruda son incluidas en su dieta.

Se realizó un muestreo por conveniencia en nueve clínicas veterinarias de la ciudad de Córdoba, incluyendo animales de cada grupo de edad, así como sanos, enfermos, machos y hembras. Además, se diseñó un cuestionario para recoger datos epidemiológicos acerca de los perros muestreados. Así, las variables incluidas fueron tales como la estación del año en la que se realizó el muestreo, la edad, el sexo, estado de salud (enfermo o sano), proceso entérico en el momento del muestreo y la presencia de niños menores de diez años conviviendo con el perro muestreado.

Un perro fue considerado enfermo si el motivo de la visita a la clínica fue una enfermedad (signos clínicos observados por el propietario), mientras que un perro se consideró sano si la razón de la visita era una revisión rutinaria, desparasitación, vacunación o traumatismos como fracturas, cortes o picaduras. Por otro lado, se consideró que un animal presentaba una enfermedad entérica cuando un trastorno digestivo (dolor abdominal, vómitos, diarrea) se identificó como la razón principal de la visita a la clínica. De esta forma, solo los animales sin enfermedad entérica dos semanas antes de acudir a la clínica se consideraron negativos a la variable enfermedad entérica.

TOMA DE MUESTRAS

Granjas de broilers

Se muestrearon un total de 291 lotes de 134 granjas de broilers diferentes localizadas en las ocho provincias de Andalucía (tabla 6), siendo el total de lotes muestreados en cada provincia proporcional a la población (muestreo estratificado). Para cada lote se cumplimentó una encuesta epidemiológica mediante una entrevista directa con el granjero.

Tabla 6. Distribución provincial de los lotes y las granjas de broilers muestreados en Andalucía

Provincia	Lotes de broilers		Granjas de broilers	
	Nº	%	Nº	%
Sevilla	114	39,2	45	33,6
Huelva	70	24,1	33	24,6
Granada	30	10,3	21	15,7
Almería	19	6,5	9	6,7
Málaga	18	6,2	5	3,7
Jaén	16	5,5	8	6,0
Córdoba	14	4,8	9	6,7
Cádiz	10	3,4	4	3,0
TOTAL	291	100	134	100

Asimismo, se tomaron 6-15 muestras cloacales y 2-7 muestras ambientales (principalmente de cama, pienso de los comederos y agua de los bebederos) de cada lote.

De esta forma, se obtuvieron un total de 2.221 muestras cloacales de broilers y 747 muestras ambientales (Fig. 11, tabla 7), tomándose todas las muestras mediante hisopos estériles, los cuales se transportaron en tubos con medio de transporte Amies (Eurotubo®). Tras la recogida, las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al laboratorio y fueron procesadas en 24 horas.

Figura 11. Toma de muestras: cloaca y agua del bebedero



Tabla 7. Número y porcentaje de muestras cloacales y ambientales tomadas en granjas de broilers

Origen de la muestra	Nº de muestras	% de muestras
Cloacal	2.221	74,8
Agua del bebedero	216	7,3
Yacija	178	6,0
Pienso del comedero	135	4,5
Instalaciones	155	5,2
Utensilios	36	1,2
Otros	27	1,0
TOTAL	2.968	100

Por otro lado, respecto al seguimiento de las cinco granjas, la tabla 8 indica el número de muestras tomadas en cada una de ellas.

Tabla 8. Número de muestras tomadas durante el seguimiento de cinco granjas

Granja	Antes de las medidas		Tras las medidas			
	Etapa	Nº de muestras		Etapa	Nº de muestras	
		Cloaca	Muestras		Cloaca	Muestras

ambientales				ambientales			
Nº 1 ^a	Nave vacía y desinfectada		30	Nave vacía y desinfectada		30	
	Edad: 14 días	8	7	Edad: 6 días	10	5	
	Edad: 28 días	8	7	Edad: 21 días	10	5	
	Edad: 35 días	8	7	Edad: 30 días	10	5	
	Edad: 43 días	15	5	Edad: 41 días	10	5	
	Matadero	15		Matadero	15		
Nº 2 ^b	Nave vacía y desinfectada		30				
	Edad: 12 días	8	7				
	Edad: 26 días	8	7				
	Edad: 33 días	10	5				
Nº 3 ^b	Nave vacía y desinfectada		30	Nave vacía y desinfectada		30	
	Edad: 5 días	8	7				
	Edad: 19 días	8	7				
	Edad: 26 días	8	7				
	Edad: 34 días	15	5				
	Matadero	15					
Nº 4 ^a	Nave vacía y desinfectada		30	Nave vacía y desinfectada		30	
	Edad: 7 días	8	7	Edad: 15 días	10	5	
	Edad: 21 días	8	7	Edad: 24 días	10	5	
	Edad: 28 días	8	7	Edad: 35 días	10	5	
	Edad: 39 días	15	5	Edad: 42 días	10	5	
	Matadero	15		Matadero	15		
Nº 5 ^a	Nave vacía y desinfectada		30	Nave vacía y desinfectada		30	
	Edad: 5 días	8	7	Edad: 11 días	10	5	
	Edad: 19 días	8	7	Edad: 21 días	10	5	
	Edad: 26 días	8	7	Edad: 32 días	10	5	
	Edad: 37 días	15	5	Edad: 39 días	10	5	
	Matadero	15		Matadero	15		

^a Medidas aplicadas → pediluvio a la entrada de la nave y desinfección realizada por una empresa especializada

^b No fue posible continuar con el muestreo debido a la aparición de un brote de Newcastle en la zona

Matadero de broilers

En matadero se tomaron un total de 1.298 muestras, siendo 637 procedentes de cloaca de pollos vivos, canales y carne de pollo despiezada; y 661 del agua de escaldado e instalaciones.

Como ya se ha apuntado en el apartado anterior, hay que diferenciar dos estudios en la toma de muestras en matadero: una parte de estas muestras fueron tomadas coincidiendo con el sacrificio del último lote de la jornada (*estudio 1*: 848 muestras) y otra parte a lo largo de toda la jornada desde el matadero limpio hasta el procesado del último lote (*estudio 2*: 450 muestras). En la tabla 9 se puede observar las muestras tomadas en cada estudio.

Tabla 9. Número y porcentaje de muestras tomadas en cada estudio y en cada zona del matadero/sala de despiece

Estudio	Zona Muelle de carga	Zona de escaldado	Zona de evisceración	Zona de clasificado	Zona de despiece	Producto final	Total
---------	----------------------	-------------------	----------------------	---------------------	------------------	----------------	-------

1. Durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada

	96 (11,3%)	88 (10,4%)	153 (18,0%)	117 (13,8%)	311 (36,8%)	83 (9,8%)	848 (100%)
2. Durante toda la jornada de sacrificio							
Desde el matadero limpio hasta el procesado del último lote*	36 (8,0%)	51 (11,3%)	79 (17,6%)	78 (17,3%)	183 (40,7%)	23 (5,1%)	450 (100%)

*Los distintos momentos en los que estas muestras fueron tomadas se puede observar en la tabla 10

La tabla 10 presenta los momentos concretos en que se tomaron las muestras cuando se realizó el seguimiento a lo largo de toda la jornada de sacrificio (*estudio 2*). Así, se comenzó tomando muestras en el matadero y la sala de despiece limpios y desinfectados antes del comienzo del sacrificio de los pollos, y se continuó tomando muestras a lo largo de todo el procesado coincidiendo con el sacrificio del primer, tercer y último lote de la jornada. Es preciso mencionar que no fue posible identificar el lote al que pertenecían las muestras tras el clasificado después del primer lote, ya que en este punto se perdía la trazabilidad del lote. En consecuencia, en la sala de despiece se tomaron muestras al comienzo (primer lote) y al final del trabajo (último lote).

Tabla 10. Número y porcentaje de muestras tomadas durante toda la jornada de sacrificio según el momento de trabajo en el matadero/sala de despiece (*estudio 2*)

Momento de trabajo en el matadero/sala de despiece	Nº de muestras	% de muestras
Matadero/sala de despiece limpios y desinfectados (antes de comenzar el sacrificio)	143	31,8
Sacrificio lote 1º (desde muelle de carga a zona de clasificado)	61	13,6
Sacrificio lote 3º (desde muelle de carga a zona de clasificado)	60	13,3
Sacrificio último lote (desde muelle de carga a zona de clasificado)	60	13,3
Zona de despiece: lote 1º	62	13,8
Zona de despiece: último lote ^a	64	14,2
Total	450	100

^a Aunque se nombra como último lote, no existe una total convicción de que todas las canales pertenezcan a este lote debido a la pérdida de trazabilidad en esta zona. Por ello, no existen muestras del lote tres en esta zona

Además, en la tabla 11 se muestra el número y el porcentaje según el origen de las muestras recogidas en cada estudio realizado en el matadero.

Tabla 11. Número y porcentaje según el origen de las muestras tomadas en cada estudio en el matadero/sala de despiece

Estudio	Origen		Maquinaria/ utensilios (durante el procesado)	Maquinaria/ utensilios limpios (durante el procesado)	Total
	Cloaca/canal/ carne despiezada	Agua de escaldado			

1. Durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada					
	476	49	285	38	848
	(56,1%)	(5,8%)	(33,6%)	(4,5%)	(100%)
2. Durante toda la jornada de sacrificio					
Desde el matadero limpio hasta el procesado del último lote	161	27	128	134	450
	(35,8%)	(6,0%)	(28,4%)	(29,8%)	(100%)

La toma de muestras en el matadero se realizó de forma similar a la realizada en las granjas, es decir, mediante hisopos estériles con medio de transporte Amies (Eurotubo®). Una vez recogidas, las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al laboratorio, procesándose de forma individual en 24 horas.

Perros en clínicas veterinarias

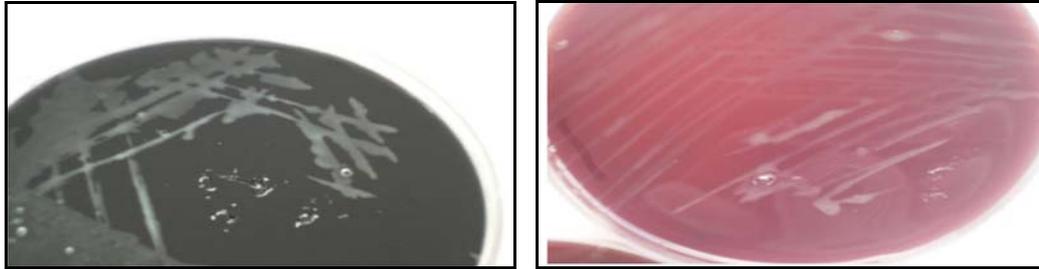
Un total de 306 muestras rectales fueron obtenidas a partir de perros domésticos que acudieron a las clínicas veterinarias desde mayo de 2007 hasta marzo de 2008. Estas muestras fueron tomadas por los veterinarios de las clínicas mediante hisopos rectales, transportadas en medio Amies (Eurotubo®) en refrigeración y procesadas en 24-48 horas. Asimismo, la encuesta epidemiológica fue cumplimentada por los veterinarios que recogieron las muestras.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *CAMPYLOBACTER*

Todos los hisopos se sembraron en agar para *Campylobacter* exento de sangre (*Campylobacter* Free Blood Agar, Oxoid®), utilizándose el suplemento CCDA modificado (cefoperazona y anfotericina B, Oxoid®) para las muestras tomadas en las granjas y el matadero de broilers, y el suplemento CAT (cefoperazona, anfotericina B y teicoplanina, Oxoid®) para las muestras obtenidas a partir de los perros domésticos.

Tras la siembra en los medios selectivos, las placas se incubaron a 42 °C durante 48 horas en condiciones de microaerofilia que se consiguieron mediante la introducción de las placas en recipientes plásticos herméticos a líquidos y gases junto a sobres de anaerobiosis (AnaeroGen, Oxoid®). Después de la incubación, las colonias presentes en el medio descrito que mostraron morfología compatible con *Campylobacter* e incluso las que se consideraron morfológicamente dudosas, fueron resembradas en agar sangre e incubadas en las mismas condiciones explicadas anteriormente. Esta resiembra se realiza con objeto de lograr una mayor pureza de los aislamientos e incrementar su crecimiento antes de identificarlos y congelarlos (Fig. 12).

Figura 12. Colonias de *Campylobacter* en medio selectivo (izquierda) y en agar sangre (derecha)



Una vez aisladas en agar sangre, se realizó la tinción de Gram para examinar su morfología microscópica y la observación al microscopio de campo oscuro para comprobar su motilidad, así como las pruebas bioquímicas de la catalasa y la oxidasa.

Tras su identificación, los aislamientos fenotípicamente clasificados como *Campylobacter* se conservaron a -80°C en un medio semisólido compuesto de agar bacteriológico, caldo nutriente, glicerol, piruvato, extracto de levadura y suplemento de crecimiento para *Campylobacter*, conocido como FBP (sulfato ferroso, metabisulfato de sodio y piruvato de sodio, Oxoid®), el cual incrementa la tolerancia al oxígeno de estos organismos. Así, estos aislamientos estaban disponibles para la posterior identificación molecular y el estudio de la sensibilidad antimicrobiana.

EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR

La extracción de ADN se llevó a cabo a partir de las colonias de *Campylobacter* crecidas en agar sangre. A continuación, mediante un asa de siembra de $10\ \mu\text{l}$, se tomaron colonias de cada aislamiento considerado fenotípicamente compatible con *Campylobacter*. Seguidamente, las colonias se mezclaron con $100\ \mu\text{l}$ de agua destilada estéril en un tubo eppendorf de $1,5\ \text{ml}$ a los que se les añadió $100\ \mu\text{l}$ de cloroformo. Esta mezcla se calentó a 80°C durante 20 minutos, congelándose luego a -20°C un mínimo de 20 minutos. Tras la congelación, los tubos se centrifugaron a 12.000 revoluciones por minuto (r.p.m.) durante 5 minutos y se obtuvo el sobrenadante en el cual se encontraba el ADN.

A partir del ADN extraído se llevó a cabo una PCR múltiple utilizando un kit de Qiagen® (Multiplex PCR Kit, Qiagen®) para la identificación molecular de los aislamientos de *Campylobacter* siguiendo el protocolo descrito por Yamazaki-Matsune y cols. (2007). Este kit

incluye la Master Mix para PCR múltiple (Qiagen®) compuesta por la Taq ADN polimerasa, los desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs) y un único tampón de PCR (KCl y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) que contiene el factor MP sintético el cual promueve la estabilidad y el alineamiento eficiente de los *primers*. Además, incluye agua libre de ARNasas y una solución llamada Q que permite la amplificación eficiente de los moldes de ADN más complejos.

Los *primers* utilizados para la PCR múltiple de los aislamientos de granjas y matadero de broilers fueron específicamente diseñados para amplificar una secuencia específica del género *Campylobacter* (16S rRNA; Linton y cols., 1996), así como secuencias de ADN específicas de las especies *C. jejuni* (gen diana *cj0414*; Wang y cols., 1992), *C. coli* (gen diana *ask*; Linton y cols., 1996) y *C. lari* (gen diana *glyA*; Wang y cols., 2002). De forma independiente, se realizó una PCR con los *primers* de la especie *C. ureolyticus* (gen diana *hsp60*; Bullman y cols., 2011), debido a que requerían una temperatura de alineamiento superior a los demás *primers*.

En contraste, para los aislamientos de *Campylobacter* de perros domésticos se utilizaron únicamente los *primers* para la identificación de especies del género *Campylobacter* (16S rRNA; Linton y cols., 1996) y de las especies *C. jejuni* (gen diana *cj0414*; Wang y cols., 1992) y *C. upsaliensis* (gen diana *lpxA*; Yamazaki-Matsune y cols., 2007).

La amplificación del ADN se llevó a cabo en un termociclador Eppendorf Mastercycler® utilizando un paso de desnaturalización inicial a 95° C durante 15 minutos y 25 ciclos que incluyeron: desnaturalización (95° C durante 30 segundos), alineamiento (58° C durante 90 segundos, 61° C para los *primers* de *C. ureolyticus*) y extensión (72° C durante 1 minuto), finalizando con un paso de extensión final de 72° C durante 7 minutos.

A continuación, cada producto de PCR fue analizado mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 por ciento en solución tampón buffer TAE al 1X teñido con bromuro de etidio y fue visualizado mediante un transiluminador de luz ultravioleta.

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Se analizó la sensibilidad antimicrobiana frente a ciprofloxacina, eritromicina, estreptomicina, tetraciclina, gentamicina y enrofloxacin (Sigma-Aldrich®) de 50 aislamientos cloacales de *Campylobacter* detectados en 50 granjas diferentes elegidas de forma aleatoria.

Por otro lado, se investigó la sensibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Campylobacter* procedentes del matadero, específicamente de la carne de pollo lista para ser comercializada. Se seleccionaron aleatoriamente 30 aislamientos de *C. jejuni* y 30 de *C. coli*, analizándose la sensibilidad frente a los siguientes antimicrobianos: ciprofloxacina, eritromicina, estreptomicina, tetraciclina y gentamicina (Sigma-Aldrich®).

Para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana en especies de *Campylobacter* se recomienda el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en placa de agar (NCCLS, 2002). Por ello, la determinación de la CMI de los aislamientos de *Campylobacter* de granjas y matadero de broilers se realizó empleando este método siguiendo el protocolo descrito por el Comité Europeo para el Análisis de Sensibilidad a los Antimicrobianos (*European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST*) de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID*) (EUCAST, 2000). Así, se realizaron 18 diluciones dobles obteniendo una concentración antimicrobiana desde 10.240 mg/l hasta 0,0781 mg/l. Seguidamente, los aislamientos seleccionados para el análisis y las cepas de referencia *C. jejuni* ATCC 33560 y *C. coli* DSMZ 4689^T utilizadas como controles, se inocularon en placas de Petri con agar Mueller Hinton suplementado con sangre y con cada concentración de antibiótico. A continuación, se incubaron en condiciones de microaerofilia a 42 °C, realizándose la lectura de los valores de la CMI tras 24 horas de incubación. Los valores de corte utilizados para la interpretación de los resultados se tomaron según el EUCAST (2012), excepto para la enrofloxacin ya que el valor de corte no aparece para este antibiótico, por lo que se tomó el valor de la ciprofloxacina, pues también es una fluoroquinolona.

Por otra parte, se evaluó la existencia de multirresistencia de los aislamientos procedentes de la carne de pollo tomando como criterio el que mostrasen resistencia frente a tres o más de los antibióticos empleados.

En contraste, se aplicó el método de difusión de disco en agar para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana en 91 aislamientos de *Campylobacter* de los perros domésticos que pudieron ser recuperados tras la congelación para la realización de esta parte del estudio. Los antimicrobianos que se probaron fueron: ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), ácido nalidíxico (30 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (25 µg) y tetraciclina (30 µg) (Oxoid®).

Se siguió el protocolo descrito en el documento M31-A2 del Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (*National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS*) (NCCLS, 2002), actualmente conocido como Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI), excepto en lo que respecta al medio de cultivo utilizado. En este sentido, se utilizó agar sangre siguiendo las recomendaciones realizadas por Zanoni y cols. (2007) en lugar de agar Mueller Hinton suplementado con 5 por ciento de sangre de oveja, debido a que se observó que no todas las cepas de *C. upsaliensis* crecían en agar Mueller Hinton con sangre. Como fue descrito para el aislamiento, las placas fueron incubadas a 42 °C en atmósfera microaerófila, interpretándose los resultados después de 24 horas de incubación.

Los puntos de corte del diámetro que definieron la susceptibilidad o la resistencia antimicrobiana también se tomaron del documento M31-A2 del NCCLS (NCCLS, 2002), excepto para la cefalotina y el trimetoprim/sulfametoxazol, ya que estos antimicrobianos no aparecen en este documento. Por este motivo, el punto de corte de la ampicilina fue utilizado para la cefalotina (ambos son beta lactámicos), no observándose área de inhibición frente a trimetoprim/sulfametoxazol para ninguno de los aislamientos.

Con el fin de evaluar la existencia de diferencias entre la sensibilidad antimicrobiana de las dos principales especies que tienen como hospedador al perro (*C. jejuni* y *C. upsaliensis*), los aislamientos que mostraron sensibilidad intermedia fueron considerados como resistentes, a fin de obtener una tabla de contingencia 2x2.

Por otra parte, se determinó la existencia de multirresistencia, definiéndose como tales aquellos aislamientos que mostraron resistencia frente a cuatro o más antimicrobianos. La diferencia en el número de resistencias necesarias con respecto al criterio empleado con los aislamientos procedentes de carne de pollo se justifica debido al mayor número de antimicrobianos usados en el estudio de los perros.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Granjas de broilers

La variable dependiente para el estudio epidemiológico fue el lote, considerándose como positivo aquel donde al menos un broiler se encontraba infectado con alguna especie del género *Campylobacter*. Las variables independientes las constituyen aquellas incluidas en la

encuesta epidemiológica. Del análisis descriptivo (distribución de frecuencias) de la variable dependiente se obtiene la prevalencia de infección. Asimismo, se calcularon las distribuciones de frecuencia de todas las variables categóricas así como la media, la mediana, la varianza, la moda, el máximo y el mínimo de las variables numéricas.

Con objeto de determinar los factores de riesgo asociados con la infección con *Campylobacter*, los lotes con animales menores de 14 días se excluyeron, ya que éstos serían negativos como consecuencia exclusivamente de la edad, por lo que en lugar de 291 lotes este análisis incluyó 275 lotes de broilers. Para el estudio de factores de riesgo se categorizaron todas las variables independientes. Así, las variables con más de dos categorías se transformaron en variables dummies dicotómicas mediante el uso de una categoría de referencia y las variables numéricas se transformaron en variables dicotómicas utilizando la mediana como valor de corte.

Con objeto de realizar una selección inicial de variables para la determinación de los factores de riesgo, se realizó un test de Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) que evalúa el grado de asociación entre la infección del lote con *Campylobacter* y las variables incluidas en la encuesta epidemiológica. Las variables asociadas con un valor de $p \leq 0,1$ fueron seleccionadas. Además, para determinar el sentido de la asociación se calculó la Odds Ratio (OR), así como su intervalo de confianza. A continuación, se realizó un estudio para determinar la existencia de colinealidad entre las variables independientes mediante el cálculo del coeficiente Phi (ϕ) debido al carácter dicotómico de todas las variables independientes. De esta forma, cuando Phi fue mayor que 0,3 y se pudo establecer la existencia de una relación biológicamente plausible entre ambas variables independientes, se descartó la variable con menor relación biológica con la infección con *Campylobacter*.

Por último, se obtuvo un modelo de regresión logística multivariable siguiendo las directrices descritas por Hosmer y Lemeshow (2000). Este análisis se realizó utilizando una selección no automática de las variables. Se estableció un modelo por pasos hacia delante hasta que la adición de una variable más al modelo resultó en un modelo menos significativo que el modelo previo según el estadístico de Wald. El modelo final determina el grado de asociación de cada una de las variables incluidas en el mismo expresado en forma de Odds Ratio con su intervalo de confianza. La bondad de ajuste del modelo se determinó mediante el test de Hosmer-Lemeshow. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa informático SPSS v15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Respecto al seguimiento de las cinco granjas, se determinó la frecuencia de infección para cada etapa del ciclo productivo antes y después del establecimiento de medidas de bioseguridad y, con objeto de evaluar la eficacia de estas medidas, se compararon estas frecuencias mediante un test de Chi-cuadrado de Pearson (χ^2).

Matadero de broilers

La frecuencia de contaminación en las distintas zonas se estudió tanto durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada (*estudio 1*) como para las muestras tomadas para evaluar las variaciones en la prevalencia a lo largo de toda la jornada de sacrificio (*estudio 2*). Como se ha descrito anteriormente, el matadero se dividió para ambos estudios en seis zonas: muelle de carga, zona de escaldado, zona de evisceración, zona de clasificado, zona de despiece y del producto final.

La unidad de muestreo para los análisis estadísticos fue cada una de las muestras tomadas con un hisopo estéril a partir de cloaca, superficie de la canal, carne de pollo despiezada o medio ambiente del matadero (instalaciones, agua de escaldado). Así, la prevalencia de *Campylobacter* y de las distintas especies de este género en cada estudio y zona del matadero se calculó mediante el programa SPSS v15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). El test de Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) fue utilizado para evaluar las diferencias entre la prevalencia de las distintas áreas. Asimismo, se realizó un test de Bonferroni para evaluar la existencia de diferencias significativas en la prevalencia relativa de las muestras procedentes de distintos orígenes (muestras de origen animal y muestras ambientales).

Perros de clínicas veterinarias

El análisis estadístico realizado en el estudio de la infección con *Campylobacter* en perros procedentes de clínicas fue similar al descrito en las granjas de broilers, con la diferencia de que la unidad de muestreo para los análisis fue el perro y no el lote. Además del estudio descriptivo, univariable (χ^2 y colinealidad) y multivariable, se realizó un test de Bonferroni para comprobar si existían diferencias significativas entre la prevalencia de infección de las distintas categorías de las variables estación del año y edad. Finalmente, en el análisis multivariable de regresión logística se obtuvieron tres modelos epidemiológicos, uno para la infección por especies del género *Campylobacter*, otro para la infección con *C. jejuni* (sin incluir la infección con cualquier otra especie de *Campylobacter*) y otro para la infección con *C. upsaliensis* (sin

incluir la infección con otras especies de este género). Al igual que en los puntos anteriores, el análisis estadístico se realizó usando el programa SPSS v15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Sensibilidad antimicrobiana

Para los aislamientos de *Campylobacter* a partir de las granjas de broilers y del matadero de broilers, además de establecer la frecuencia de sensibilidad para cada antibiótico, se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias: CMI_{Moda} , la CMI_{50} y la CMI_{90} . La CMI_{Moda} es el valor de CMI más frecuente, y la CMI_{50} y CMI_{90} es la CMI necesaria para inhibir el crecimiento del 50 y 90 por ciento de los aislamientos, respectivamente.

En cuanto al estudio de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* realizados a partir de perros, ya que se utilizó el método de difusión de disco en agar, solo se determinó el porcentaje de sensibilidad para cada uno de los antibióticos analizados.

Además, tanto para los aislamientos de carne de pollo en matadero como para los aislados a partir de perros se determinaron las diferencias entre la sensibilidad antimicrobiana de las especies aisladas (*C. jejuni* y *C. coli* en carne de pollo, y *C. jejuni* y *C. upsaliensis* en perros) mediante el test de Chi-cuadrado (χ^2) usando el programa SPSS v15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

GRANJAS DE BROILERS

Los datos descriptivos de las granjas de Andalucía donde se muestrearon los lotes de este estudio se muestran en la tabla 12 (variables numéricas) y la tabla 13 (variables categóricas).

Tabla 12. Datos descriptivos de las granjas de Andalucía: variables numéricas

Variable numérica	Media	Mediana	Moda	Máximo	Mínimo	Varianza
Nº de broilers en la granja	41.351,8	38.000	55.000	144.000	6.200	620680314,7
Nº de naves	2,5	2	2	7	1	2,2
Nº de broilers en el lote	17.982,4	15.700	13.000	45.500	5.000	72633978,3
Antigüedad de la nave (años)	18,8	19	30	50	<1	132,5
Lotes/año criados en una nave	5,0	5	5	6	4	0,1
M ² de la nave	1.379,4	1.320	1.200	3.090	300	308041,3
Densidad de animales (broilers/m ²)	12,8	12,7	15	27	3,11	10,4
Tª de la nave (° C)	25,0	25	28	32	17	12,7
Vacío sanitario (días)	23,5	22	20	70	12	50,9
Nº de trabajadores	1,5	1	1	5	1	0,5
Nº de visitas/semana	2,7	2	2	7	1	1,4
Nº de líneas de bebederos	3,3	3	3	6	2	0,5
Nº de líneas de comederos	4,0	4	4	6	2	0,5

Tabla 13. Datos descriptivos de las granjas de Andalucía: variables categóricas

Variable categórica	Categoría	Distribución de frecuencias nº (%)
Otras granjas de broilers a <1 Km.	Sí	116 (45,8)
	No	137 (54,2)
Granjas de pavos a <1 Km.	Sí	35 (13,8)
	No	218 (86,2)
Granjas de cerdos a <1km	Sí	30 (11,9)
	No	223 (88,1)
Perros/gatos en la granja	Sí	220 (87,0)
	No	33 (13,0)

¿Se alimentan estos perros/gatos con pollos criados en la granja?	Sí	192 (87,3)
	No	28 (12,7)
Presencia de otros animales en la granja	Sí	64 (25,3)
	No	189 (74,7)
Despoblación parcial	Sí	163 (64,4)
	No	90 (35,6)
Tratamiento antibiótico	Sí	233 (92,1)
	No	20 (7,9)
Sexo de los trabajadores	Hombre	213 (84,2)
	Mujer/mujer y hombre	40 (15,8)
Material de las paredes	Con cemento/hormigón	209 (83,6)
	Sin cemento/hormigón	41 (16,4)
Sistema de calefacción	Biomasa	182 (71,9)
	Otros	71 (28,1)
Sistema de refrigeración	Nebulización	217 (86,1)
	Cooling	35 (13,9)
Control de la humedad relativa	Sí	70 (27,7)
	No	183 (72,3)
Sistema de ventilación	Forzada	149 (58,9)
	Natural no forzada	104 (41,1)
Control de la ventilación	Manual	118 (46,6)
	Automático	135 (53,4)
Material de las persianas	Lona	80 (31,6)
	Otros	173 (68,4)
Manejo de las persianas/ventanas	Manual	132 (53,2)
	Automático	116 (46,8)
Origen del agua	Público	92 (36,7)
	Privado (pozo, otros)	159 (63,3)
Tratamiento del agua	Sí	202 (79,8)
	No	51 (20,2)
Tipo de bebederos	Tetina	206 (81,4)
	Otros	47 (18,6)
Origen del pienso	Compañía A	86 (34,1)
	Compañía B	94 (37,3)
	Compañía C	57 (22,6)
	Compañía D	15 (6,0)
Tipo de comederos	Plato	222 (87,7)
	Tolva	31 (12,3)
Tipo de yacija	Cascarilla de arroz	173 (68,4)
	Otros	80 (31,6)
Tratamiento de la yacija	Sí	131 (52,0)
	No	121 (48,0)
Cerca perimetral	Sí	194 (76,7)
	No	59 (23,3)
Cámara de entrada	Sí	59 (23,3)
	No	194 (76,7)
Roedores en la nave	Sí	109 (43,1)

	No	144 (56,9)
Pájaros en la nave	Sí	136 (53,8)
	No	117 (46,2)
Insectos en la nave	Sí	224 (88,5)
	No	29 (11,5)
Pediluvios en la entrada de la nave	Sí	38 (15,0)
	No	215 (85,0)
Mallas pajareras	Sí	241 (96,0)
	No	10 (4,0)
Silos cerrados	Sí	172 (68,0)
	No	81 (32,0)
¿Quién desinfecta la nave?	Granjero	111 (44,2)
	Empresa especializada	140 (55,8)

La prevalencia individual de la infección con *Campylobacter* fue de 38,1 por ciento, es decir, 846 muestras cloacales positivas de las 2.221 muestras tomadas. Concretamente, 496 (58,6%) aislamientos cloacales fueron identificados como *C. jejuni*, mientras que 165 (19,5%) fueron identificados como *C. coli*. Asimismo, se detectaron 32 (3,8%) infecciones mixtas con *C. jejuni* y *C. coli*. Además, un total de 153 (18,1%) aislamientos solo pudieron ser definidos como *Campylobacter* spp. ya que no fue posible la determinación de la especie (Tabla 14). Las especies *C. lari* y *C. ureolyticus* no fueron detectadas en este estudio.

Asimismo, la prevalencia de infección por lotes fue de 62,9 por ciento, es decir, en 183 de los 291 lotes muestreados se detectó al menos un animal positivo a la infección con *Campylobacter*. En este sentido, 58 (31,7%) lotes se encontraban infectados exclusivamente con *C. jejuni*, 11 (6,0%) exclusivamente con *C. coli* y 12 (6,6%) exclusivamente con *Campylobacter* spp., mientras que en 35 (19,1%) lotes se identificó *C. jejuni* y *C. coli*, en 40 (21,9%) *C. jejuni* y *Campylobacter* spp., en 8 (4,4%) *C. coli* y *Campylobacter* spp. y en 19 (10,4%) *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp. (tabla 14).

Tabla 14. Distribución de la proporción relativa de las especies de *Campylobacter* aisladas en lotes de broilers

Especies de <i>Campylobacter</i>	Muestras cloacales nº (%)	Lotes de broilers Nº (%)
<i>C. jejuni</i>	496 (58,6)	58 (31,7)
<i>C. coli</i>	165 (19,5)	11 (6,0)
<i>Campylobacter</i> spp.	153 (18,1)	12 (6,6)
<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>	32 (3,8)	35 (19,1)
<i>C. jejuni</i> + <i>Campylobacter</i> spp.	0 (0,0)	40 (21,9)
<i>C. coli</i> + <i>Campylobacter</i> spp.	0 (0,0)	8 (4,4)
<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i> + <i>Campylobacter</i> spp.	0 (0,0)	19 (10,4)

Por otra parte, la prevalencia intrarrebaño media fue de 60,5 por ciento. Esta prevalencia se ha presentado del siguiente modo según la edad: ausencia de infección en animales menores de 14 días, 59,9 por ciento en animales de 14-35 días de edad y 61,3 por ciento en los animales de 36-50 días (tabla 15). Respecto a la distribución por especies, el 60,2 y el 52,2 por ciento de *C. jejuni*, el 15,7 y el 26,9 por ciento de *C. coli*, y el 20,4 y el 15,1 por ciento de *Campylobacter* spp. fue observado en los broilers de 14-35 días y de 36-50 días, respectivamente (tabla 16).

Tabla 15. Distribución según la edad de la prevalencia intrarrebaño media en los lotes de broilers positivos a *Campylobacter*

Categoría de edad	Nº lotes positivos/total (prevalencia por lotes (%))	Prevalencia intrarrebaño media (%)
Lotes de broilers <14 días	0/16 (0,0)	0,0
Lotes de broilers ≥14-35 días	109/182 (59,9)	59,9
Lotes de broilers ≥36-50 días	74/93 (79,6)	61,3
Total	183/291 (62,9)	60,5

Tabla 16. Distribución según la edad de las especies de *Campylobacter* en los lotes de broilers positivos

Categoría de edad	<i>C. jejuni</i> (%)	<i>C. coli</i> (%)	<i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> (%)	<i>Campylobacter</i> spp. (%)
Lotes de broilers <14 días	0	0	0	0
Lotes de broilers ≥14-35 días	60,2	15,7	3,1	21
Lotes de broilers ≥36-50 días	52,2	26,9	5	15,8

Por ello, como se ha apuntado anteriormente, los factores de riesgo asociados con la infección con *Campylobacter* se determinaron sin incluir los lotes con animales menores de 14 días, puesto que se consideró que estos lotes resultaron negativos debido a la edad. De este modo, en lugar de 291 lotes, el análisis de factores de riesgo incluyó 275 ya que se excluyeron los 16 lotes con broilers menores de 14 días.

En la tabla 17 se puede observar las variables del análisis univariable de la infección con *Campylobacter* en los 275 lotes de broilers mayores de 13 días. Asimismo, en dicha tabla también aparecen con un asterisco las variables que fueron eliminadas debido a colinealidad ($\phi < 0,3$).

Tabla 17. Análisis univariable de las variables asociadas con la infección con *Campylobacter* ($p \leq 0,1$) en 275 lotes de broilers mayores de 13 días de edad

Variable	Categoría	<i>Campylobacter</i>		Chi-cuadrado		Odds Ratio	
		Sí nº (%)	No nº (%)	Chi	p	OR	IC _{95%}
Invierno ^a	Sí	46 (71,9)	18 (28,1)	5,86	0,015	2,20	1,2-4,2
	No	71 (53,8)	61 (46,2)				
Primavera ^a	Sí	30 (81,1)	7 (18,9)	8,95	0,003	3,68	1,5-9,0
	No	71 (53,8)	61 (46,2)				
Verano ^a	Sí	36 (85,7)	6 (14,3)	13,72	<0,001	5,16	2,0-13,1
	No	71 (53,8)	61 (46,2)				
Granjas de pavos <1 km	Sí	35 (77,8)	10 (22,2)	3,05	0,081	1,94	0,9-4,1
	No	148 (64,3)	82 (35,7)				
Perros/gatos en la granja	Sí	166 (69,2)	74 (30,8)	5,82	0,016	2,38	1,2-4,9
	No	17 (48,6)	18 (51,4)				
Edad de los broilers	> 30 días	110 (80,9)	26 (19,1)	24,84	<0,001	3,85	2,5-5,0
	≤ 30 días	73 (52,5)	66 (47,5)				
Despoblación parcial	Sí	141 (76,2)	44 (23,8)	23,75	<0,001	3,66	2,1-6,3
	No	42 (46,7)	48 (53,3)				
Tª de la nave*	≤ 25 °C	106 (72,1)	41 (27,9)	5,36	0,021	1,84	1,1-3,1
	> 25 °C	66 (58,4)	47 (41,6)				
Vacío sanitario	≤ 23 días	104 (72,7)	39 (27,3)	5,11	0,024	1,79	1,1-3,0
	> 23 días	79 (59,8)	53 (40,2)				
Tratamiento antibiótico*	Sí	178 (69,8)	77 (30,2)	16,72	<0,001	6,94	2,4-19,8
	No	5 (25,0)	15 (75,0)				
Sexo de los trabajadores	Hombre	158 (69,0)	71 (31,0)	3,69	0,055	1,87	1,0-3,6
	Mujer/mujer y hombre	25 (54,3)	21 (45,7)				
Nº de visitas cada semana	≤ 2 personas	88 (60,3)	58 (39,7)	5,50	0,019	0,54	0,3-0,9
	> 2 personas	95 (73,6)	34 (26,4)				
Sistema de refrigeración	Nebulización	173 (72,4)	66 (27,6)	26,42	<0,001	6,55	3,0-14,4
	Cooling	10 (28,6)	25 (71,4)				
Control de la humedad relativa	Sí	37 (50,0)	37 (50,0)	12,45	<0,001	0,38	0,2-0,7
	No	146 (72,6)	55 (27,4)				
Sistema de ventilación	Forzada	102 (62,2)	62 (37,8)	3,45	0,063	0,61	0,4-1,0
	Natural no forzada	81 (73,0)	30 (27,0)				
Control de la ventilación	Manual	91 (73,4)	33 (26,6)	4,75	0,029	1,77	1,1-3,0
	Automático	92 (60,9)	59 (39,1)				
Material de las persianas	Lona	79 (84,9)	14 (15,1)	21,37	<0,001	4,23	2,2-8,0
	Otros	104 (57,1)	78 (42,9)				
Nº de líneas de bebederos	≤ 4	155 (70,8)	64 (29,2)	9,93	0,002	2,61	1,4-4,8
	> 4	26 (48,1)	28 (51,9)				
Origen del pienso A ^b	Sí	71 (74,7)	24 (25,3)	23,31	<0,001	5,47	2,7-11,2
	No	20 (35,1)	37 (64,9)				
Origen del pienso B ^b	Sí	84 (78,5)	23 (21,5)	30,22	<0,001	6,76	3,3-13,8
	No	20 (35,1)	37 (64,9)				
Nº de líneas de comederos*	≤ 3	135 (70,7)	56 (29,3)	5,46	0,019	1,89	1,1-3,2
	> 3	46 (56,1)	36 (43,9)				
Cerca perimetral	Sí	131 (62,1)	80 (37,9)	8,10	0,004	0,38	0,2-0,8
	No	52 (81,3)	12 (18,8)				
Roedores en la nave	Sí	94 (79,0)	25 (21,0)	14,60	<0,001	2,83	1,6-4,9
	No	89 (57,1)	67 (42,9)				
Pájaros en la nave	Sí	118 (80,3)	29 (19,7)	26,73	<0,001	3,94	2,3-6,7
	No	65 (50,8)	63 (49,2)				
Insectos en la nave	Sí	165 (68,8)	75 (31,3)	4,12	0,042	2,08	1,0-4,3
	No	18 (51,4)	17 (48,6)				

¿Quién desinfecta la nave?	Granjero	102 (79,7)	26 (20,3)	19,33	<0,001	3,28	1,9-5,6
	Empresa especializada	79 (54,5)	66 (45,5)				

* Variables eliminadas debido a colinealidad ($\phi < 0,3$)

^a La categoría de referencia es otoño

^b La categoría de referencia es el origen del pienso C. El origen del pienso D no es una variable significativa

Debido a la considerable importancia de la estación del año para la infección por especies del género *Campylobacter* derivada de otros estudios (Bouwknegt y cols., 2004; McDowell y cols., 2008), esta variable se estudió desde otro punto de vista, comparando la prevalencia en cada estación con la prevalencia media en el resto de estaciones (tabla 18).

Tabla 18. Estudio univariable de la estación del año en granjas

Variable	Categoría	<i>Campylobacter</i>		Chi-cuadrado		Odds Ratio	
		Sí nº (%)	No nº (%)	Chi	p	OR	IC _{95%}
Estación del año	Otoño	71 (53,8)	61 (46,2)	18,56	<0,001	0,32	0,2-0,5
	Invierno	46 (71,9)	18 (28,1)	1,06	0,302	1,38	0,7-2,6
	Primavera	30 (81,1)	7 (18,9)	4,06	0,044	2,38	1,0-5,7
	Verano	36 (85,7)	6 (14,3)	8,18	0,004	3,51	1,4-8,7

Así, el modelo de regresión logística multivariable incluyó seis factores de riesgo asociados con la infección con *Campylobacter*: la presencia de perros o gatos en la granja, la edad de los animales (mayores de 30 días), la práctica de la despoblación parcial en cada lote, el uso de nebulizadores como sistema de refrigeración, las ventanas con persianas de lona y menos de cinco líneas de bebederos en la nave (tabla 19). El modelo presenta una adecuada bondad de ajuste entre lo predicho y lo realmente observado ($p=0,292$).

Tabla 19. Modelo de regresión logística de la infección con *Campylobacter* en 275 lotes de broilers mayores de 13 días en Andalucía

Variable	Categoría	Odds Ratio	
		OR	CI _{95%}
Perros/gatos en la granja	Sí	2,49	1,0-6,0
	No ^a		
Edad de los broilers	>30 días	4,76	2,5-10,0
	≤30 días ^a		
Despoblación parcial	Sí	2,73	1,4-5,2
	No ^a		
Sistema de refrigeración	Nebulización	5,34	2,0-14,3
	Cooling ^a		

Material de las persianas	Lona	2,92	1,4-6,1
	Otros ^a		
Nº de líneas de bebederos	≤4	2,78	1,2-6,2
	>4 ^a		

^a Categoría de referencia

El factor de riesgo más importante hallado en este estudio fue el empleo de nebulizadores como sistema de refrigeración (OR: 5,34, IC_{95%}: 2,0-14,3). Así, la prevalencia aumentó 5,34 veces en naves con un sistema de refrigeración con nebulizadores. La siguiente variable en el modelo, según el valor de la Odds Ratio, fue la edad (mayores de 30 días) (OR: 4,76, IC_{95%}: 2,5-10). En relación a los cuatro factores de riesgo restantes, mostraron un valor de OR similar: ventanas con persianas de lona (OR: 2,92, IC_{95%}: 1,4-6,1), menos de cinco líneas de bebederos en la nave (OR: 2,78, IC_{95%}: 1,2-6,2), la despoblación parcial (OR: 2,73, IC_{95%}: 1,4-5,2) y la presencia de perros o gatos en la granja (OR: 2,49, IC_{95%}: 1,0-6,0).

Respecto al medio ambiente de la nave (yacija, agua, pienso, etc.), se aislaron especies del género *Campylobacter* en 66 lotes (23,5%). Cabe destacar que nunca se logró aislar *Campylobacter* en muestras ambientales cuando los broilers de esa nave resultaron negativos. La tabla 20 muestra que el mayor porcentaje de muestras positivas correspondieron a las tomadas de la yacija (25,8%) y el menor a las tomadas del pienso de los comederos (5,2%) y de los utensilios utilizados en la granja (5,6%). Asimismo, se observó un porcentaje similar de muestras positivas tomadas a partir del agua de los bebederos (9,7%) y de las instalaciones (9,0%).

Tabla 20. Detección de *Campylobacter* a partir de las muestras ambientales tomadas en el entorno de las naves de los broilers

Origen de la muestra	<i>Campylobacter</i>	
	Sí nº (%)	No nº (%)
Agua del bebedero	21 (9,7)	195 (90,3)
Yacija	46 (25,8)	132 (74,2)
Pienso del comedero	7 (5,2)	128 (94,8)
Instalaciones	14 (9,0)	141 (91,0)
Utensilios	2 (5,6)	34 (94,4)
Otros	4 (14,8)	23 (85,2)

Así, las instalaciones a partir de las que se aisló *Campylobacter* fueron las siguientes: ventilador (una muestra positiva), pared (nueve muestras positivas), puerta (una muestra positiva), tolva (una muestra positiva) y persiana de lona (dos muestras positivas). En cuanto a los utensilios, se encontró *Campylobacter* en una pala y en una carretilla.

Respecto a las especies de *Campylobacter* encontradas en las muestras ambientales, la más frecuente fue *C. jejuni* (47,6%). *Campylobacter coli* se observó en el 28,6 por ciento de las muestras, mientras que en 23,8 por ciento de las muestras en las que se aisló *Campylobacter* no se logró identificar la especie.

Por otro lado, la tabla 21 indica la prevalencia de *Campylobacter* observada en las granjas en las que se realizó el seguimiento. Así, se puede observar que la prevalencia en cuanto a las muestras cloacales aumenta o se mantiene a medida que los broilers tienen mayor edad en la granja, disminuyendo, sin embargo, al llegar al matadero. Asimismo, en todas las granjas se aisló *Campylobacter* excepto en la granja número dos. En cuanto a las especies aisladas, las granjas número tres y cinco presentaron infección exclusivamente con *C. coli* y *C. jejuni*, respectivamente, mientras que las granjas número uno y cuatro presentaron infección mixta con *C. jejuni*, *C. coli* y *Campylobacter* spp. No se hallaron diferencias significativas entre los resultados iniciales y tras las medidas cuando se realizaron los análisis para las muestras cloacales ($p=0,15$), para las muestras ambientales ($p=0,27$), así como para el total de muestras ($p=0,787$).

Tabla 21. Resultados obtenidos en el seguimiento de cinco granjas

Granja	Antes de las medidas		Tras las medidas		
	Etapa	<i>Campylobacter</i> nº (%)	Etapa	<i>Campylobacter</i> nº (%)	
		Cloaca		Cloaca	Muestras ambientales
Nº 1 ^a	Nave vacía y desinfectada				
	Edad: 14 días	0/8 (0,0)	0/30 (0,0)	Nave vacía y desinfectada	0/30 (0,0)
	Edad: 28 días	6/8 (75,0)	0/7 (0,0)	Edad: 6 días	0/10 (0,0)
	Edad: 35 días	7/8 (87,5)	3/7 (42,9)	Edad: 21 días	1/10 (10,0)
	Edad: 43 días	14/15 (93,3)	0/7 (0,0)	Edad: 30 días ^c	0/5 (0,0)
	Matadero	2/15 (13,3)	0/5 (0,0)	Edad: 41 días	10/10 (100)
Nº 2 ^b	Nave vacía y desinfectada			Edad: 41 días	3/5 (60,0)
	Edad: 12 días	0/8 (0,0)	0/30 (0,0)	Matadero	8/15 (53,3)
	Edad: 26 días	0/8 (0,0)	0/7 (0,0)		
	Edad: 33 días	0/10 (0,0)	0/7 (0,0)		
Nº 3 ^b	Nave vacía y desinfectada				
	Edad: 5 días	0/8 (0,0)	0/30 (0,0)	Nave vacía y desinfectada	0/30 (0,0)
	Edad: 19 días	6/8 (75,0)	0/7 (0,0)		
	Edad: 26 días	6/8 (75,0)	5/7 (71,4)		
	Edad: 34 días	13/15 (86,7)	1/7 (14,3)		
Nº 4 ^a	Matadero	7/15 (46,7)	1/5 (20,0)		
	Nave vacía y desinfectada		0/30 (0,0)	Nave vacía y desinfectada	0/30 (0,0)
	Edad: 7 días	0/8 (0,0)	0/7 (0,0)	Edad: 15 días	0/10 (0,0)
	Edad: 21 días	0/8 (0,0)	0/7 (0,0)	Edad: 24 días ^c	0/5 (0,0)

Nº 5 ^a	Edad: 28 días	8/8 (100)	0/7 (0,0)	Edad: 35 días	9/10 (90,0)	2/5 (40,0)
	Edad: 39 días	15/15 (100)	1/5 (20,0)	Edad: 42 días	9/10 (90,0)	0/5 (0,0)
	Matadero	11/15 (73,3)		Matadero	6/15 (40,0)	
	Nave vacía y desinfectada		0/30 (0,0)	Nave vacía y desinfectada		0/30 (0,0)
	Edad: 5 días	0/8 (0,0)	0/7 (0,0)	Edad: 11 días	0/10 (0,0)	0/5 (0,0)
	Edad: 19 días	0/8 (0,0)	0/7 (0,0)	Edad: 21 días ^c		
	Edad: 26 días	1/8 (12,5)	0/7 (0,0)	Edad: 32 días	6/10 (60,0)	1/5 (20,0)
	Edad: 37 días	15/15 (100)	2/5 (40,0)	Edad: 39 días	9/10 (90,0)	2/5 (40,0)
	Matadero	5/15 (33,3)		Matadero	0/15 (0,0)	

^a Medidas aplicadas: pediluvio a la entrada de la nave y desinfección realizada por una empresa especializada

^b No fue posible continuar con el muestreo debido a la aparición de un brote de Newcastle en la zona

^c A causa de un problema con la estufa en la que se incubaron las muestras no fue posible obtener resultados

MATADERO DE BROILERS

Estudio 1: prevalencia y prevalencia relativa de *Campylobacter* durante el sacrificio y procesado del último lote de la jornada

Según se explicó en la sección de material y métodos, en el *estudio 1* las muestras se tomaron durante el sacrificio del último lote de la jornada en cada una de las zonas del matadero, observándose que el 65,9 por ciento (559/848) de las muestras resultaron positivas a *Campylobacter*. Las muestras tomadas en este estudio se dividieron según se obtuviesen a partir de los pollos vivos, las canales o las distintas porciones que resultaron tras el despiece (muestras de origen animal), o bien a partir del medio ambiente del matadero y la sala de despiece: agua de escaldado, maquinaria o utensilios (muestras ambientales).

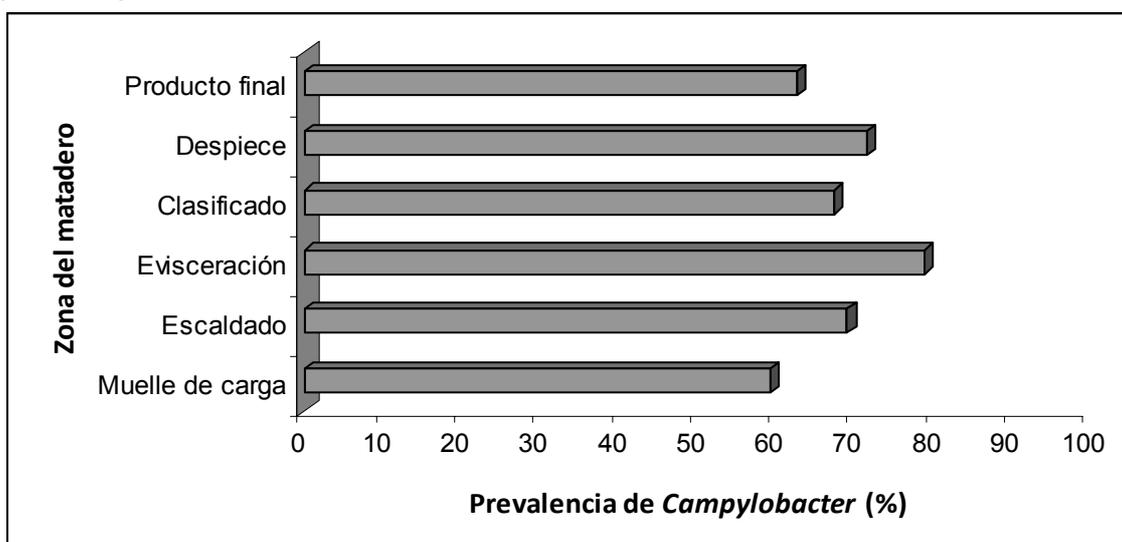
Respecto a las muestras de origen animal, la etapa donde se aisló *Campylobacter* con mayor frecuencia fue en la zona de evisceración (79,1%), disminuyendo hasta un 67,4 por ciento en la etapa de procesado consecutiva (zona de clasificado). A continuación se observó un incremento leve durante el despiece (71,7%), disminuyendo al final del proceso hasta un 62,7 por ciento (tabla 22, Fig. 13).

Tabla 22. Evolución de la prevalencia de *Campylobacter* por zonas en muestras de origen animal (*estudio 1*)

Zona	<i>Campylobacter</i>	
	Sí nº (%)	No nº (%)
Muelle de carga	57 (59,4)	39 (40,6)
Escaldado	27 (69,2)	12 (30,8)
Evisceración	53 (79,1)	14 (20,9)
Clasificado	31 (67,4)	15 (32,6)
Despiece	104 (71,7)	41 (28,3)
Producto final	52 (62,7)	31 (37,3)

Si bien se observa un incremento en la prevalencia desde el muelle de carga hasta el escaldado, éste no resultó significativo a un nivel de confianza del 95 por ciento ($p=0,284$). Sin embargo, si el análisis lo realizamos entre la prevalencia inicial en el muelle de carga y tras la evisceración, el incremento de la prevalencia sí resulta significativo ($p=0,008$). Asimismo, la disminución en la prevalencia en la zona de clasificado y en el producto final ocasionan que, desde la evisceración, la prevalencia de *Campylobacter* vuelva a reducirse de forma significativa en el producto final ($p=0,029$).

Figura 13. Prevalencia de *Campylobacter* (%) por zonas en muestras de origen animal (estudio 1)

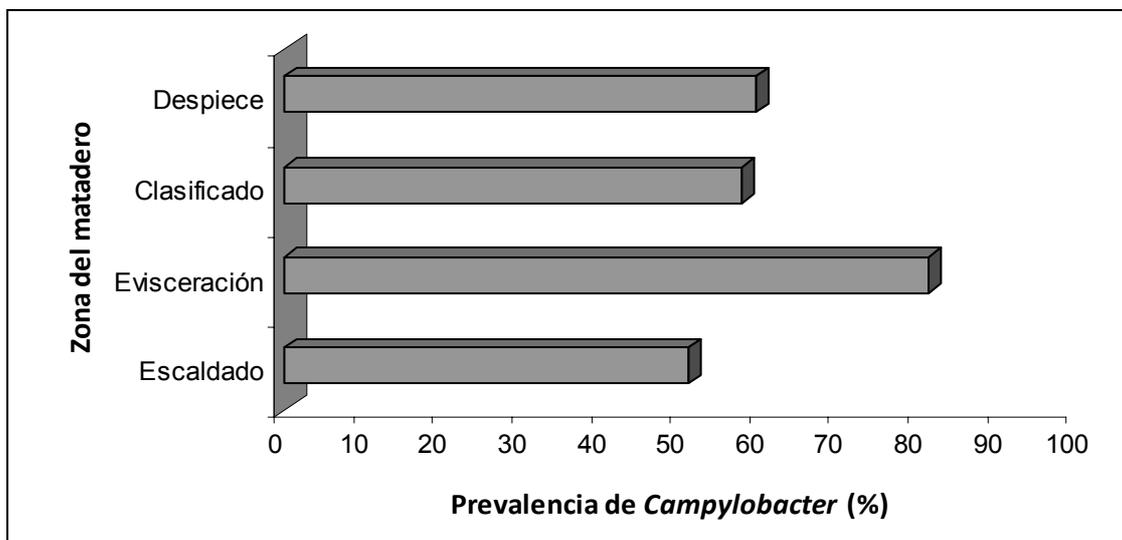


Respecto a las muestras ambientales, la tabla 23 y la figura 14 presentan la prevalencia por zonas. Según se observa, la maquinaria y utensilios ubicados en la zona de evisceración presentan la mayor prevalencia de *Campylobacter* (81,4%), suponiendo la principal fuente de contaminación para las canales.

Tabla 23. Prevalencia de *Campylobacter* por zonas en muestras ambientales (estudio 1)

Zona	Origen de la muestra	<i>Campylobacter</i>	
		Sí nº (%)	No nº (%)
Muelle de carga	-	-	-
Escaldado	Agua	25 (51,0)	24 (49,0)
Evisceración	Maquinaria/utensilios	70 (81,4)	16 (18,6)
Clasificado	Utensilios	41 (57,7)	30 (42,3)
Despiece	Maquinaria/utensilios	99 (59,6)	67 (40,4)
Producto final	-	-	-

Figura 14. Prevalencia de *Campylobacter* (%) por zonas en muestras ambientales (estudio 1)



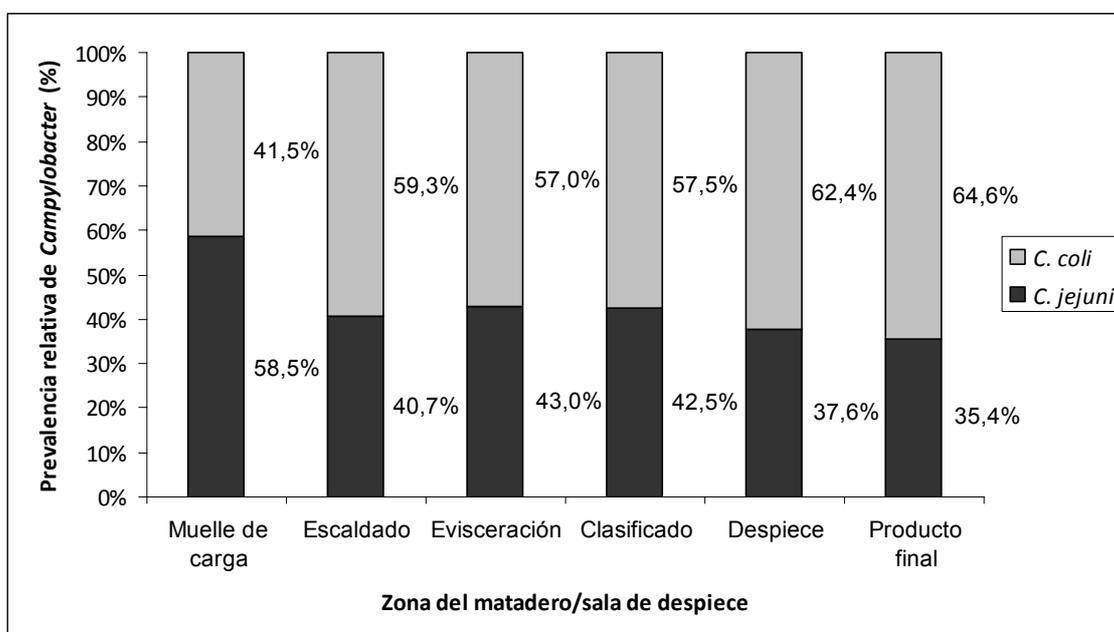
En cuanto a las especies de *Campylobacter* aisladas en las distintas zona del matadero durante el procesado (considerando tanto muestras de origen animal como ambientales), *C. coli* fue la que se aisló con mayor frecuencia encontrándose el 30,1 por ciento (255/848), seguida de *C. jejuni* con el 18,4 por ciento (156/848). Asimismo, se hallaron infecciones mixtas de *C. jejuni* y *C. coli* en el 10,1 por ciento (86/848) de las muestras, y otras especies pertenecientes al género *Campylobacter* que no pudieron ser identificadas en el 7,3 por ciento (62/848). En la tabla 24 se puede observar la distribución de las especies de *Campylobacter* aisladas en cada zona del matadero. *Campylobacter jejuni* fue la especie de este género identificada con mayor frecuencia en las aves previamente a su sacrificio; sin embargo, al final del procesado fue *C. coli* la que presentó una prevalencia más elevada.

Tabla 24. Especies de *Campylobacter* en cada zona del matadero (estudio 1)

Zona	<i>C. jejuni</i> nº (%)	<i>C. coli</i> nº (%)	<i>Campylobacter</i> spp. nº (%)	<i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> nº (%)	Negativo Nº (%)
Muelle de carga	22 (22,9)	13 (13,5)	13 (13,5)	9 (9,4)	39 (40,6)
Escaldado	14 (15,9)	24 (27,3)	6 (6,8)	8 (9,1)	36 (40,9)
Evisceración	33 (21,6)	53 (34,6)	9 (5,9)	28 (18,3)	30 (19,6)
Clasificado	21 (17,9)	32 (27,4)	9 (7,7)	10 (8,5)	45 (38,5)
Despiece	51 (16,4)	104 (33,4)	19 (6,1)	29 (9,3)	108 (34,7)
Producto final	15 (18,1)	29 (34,9)	6 (7,2)	2 (2,4)	31 (37,3)

Así, con el fin de analizar las diferencias entre las dos especies de *Campylobacter* aisladas, se calculó la prevalencia relativa de *C. jejuni* y *C. coli* (considerando que la suma de aislamientos de *C. jejuni* y *C. coli* es el 100 por cien, la prevalencia relativa sería el porcentaje correspondiente a cada especie). De esta forma, para el cálculo de la prevalencia relativa las muestras de las que se aislaron ambas especies (infecciones mixtas) se sumaron tanto a los aislamientos de *C. jejuni* como de *C. coli*. Además, se excluyeron para el cálculo los aislamientos que solo fueron identificados como *Campylobacter* (*Campylobacter* spp.). La figura 15 muestra la prevalencia relativa de cada especie, observándose que, aunque en el inicio *C. jejuni* se aisló con mayor frecuencia, en el producto final la prevalencia relativa de *C. coli* fue cerca de dos veces mayor que la de *C. jejuni*.

Figura 15. Prevalencia relativa de *C. jejuni* y *C. coli* en cada zona del matadero (estudio 1)



En este sentido, al comparar la prevalencia relativa de cada especie de *Campylobacter* entre zonas del matadero consecutivas: muelle de carga y escaldado, escaldado y evisceración, evisceración y clasificado, clasificado y despiece, y despiece y producto final, no se observaron diferencias significativas ($p=0,066$, $p=0,779$, $p=0,945$, $p=0,458$, $p=0,781$, respectivamente) a un nivel de confianza del 95 por ciento. En contraste, sí sería significativa la diferencia entre el muelle de carga y el escaldado a un nivel de confianza del 90 por ciento. Asimismo, existe diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 por ciento en cuanto a la prevalencia relativa de ambas especies entre la fase inicial del estudio en matadero (aves vivas) y el producto final listo para su venta ($p=0,02$).

En la tabla 25 se muestra la prevalencia de *Campylobacter* según el origen de la muestra tomada en las distintas zonas del matadero. Así, se puede observar que la prevalencia de *Campylobacter* fue similar independientemente del origen de la muestra. Cabe destacar que se aislaron especies de *Campylobacter* incluso a partir de muestras de maquinaria/utensilios limpios durante el procesado, si bien a partir de estas muestras la prevalencia se redujo hasta un 23,7 por ciento (9/38). Concretamente, *Campylobacter* se aisló de cinco contenedores limpios de la zona de clasificado, así como de una báscula, una tabla de corte de teflón y dos bandejas para el posterior envasado en la zona de despiece.

Tabla 25. Prevalencia de *Campylobacter* según el origen de las muestras tomadas en matadero (estudio 1)

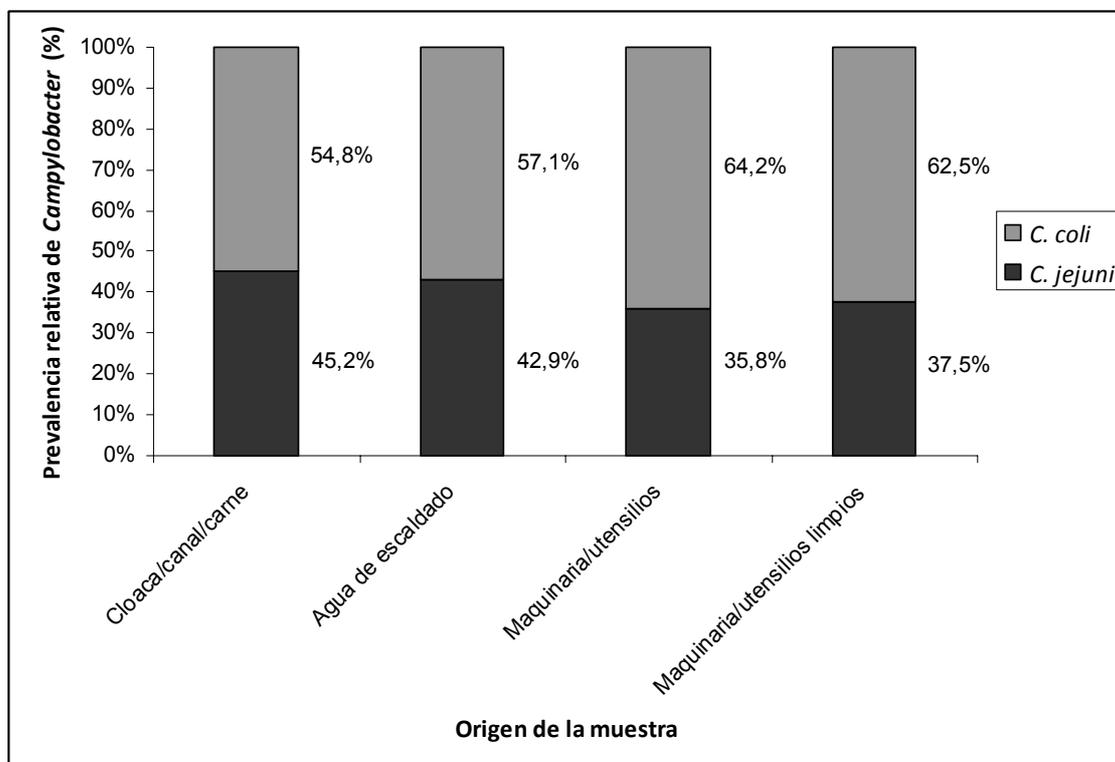
Origen de la muestra	<i>Campylobacter</i>	
	Sí nº (%)	No nº (%)
Cloaca/canal/carne despiezada	324 (68,1)	152 (31,9)
Agua de escaldado	25 (51,0)	24 (49,0)
Maquinaria/utensilios (durante el procesado)	201 (70,5)	84 (29,5)
Maquinaria/utensilios limpios (durante el procesado)	9 (23,7)	29 (76,3)

Asimismo, las especies de *Campylobacter* aisladas a partir de los distintos orígenes de las muestras se pueden observar en la tabla 26, mientras que la prevalencia relativa de *C. jejuni* y *C. coli* se muestra en la figura 16.

Tabla 26. Especies de *Campylobacter* según el origen de las muestras (estudio 1)

Origen de la muestra	<i>C. jejuni</i> nº (%)	<i>C. coli</i> nº (%)	<i>Campylobacter</i> spp. nº (%)	<i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i> nº (%)	Negativo nº (%)
Cloaca/canal/carne despiezada	106 (22,3)	138 (29,0)	36 (7,6)	44 (9,2)	152 (31,9)
Agua de escaldado	7 (14,3)	11 (22,4)	2 (4,1)	5 (10,2)	24 (49,0)
Maquinaria/utensilios (durante el procesado)	40 (14,0)	101 (35,4)	23 (8,1)	37 (13,0)	84 (29,5)
Maquinaria/utensilios limpios (durante el procesado)	3 (7,9)	5 (13,2)	1 (2,6)	0 (0,0)	29 (76,3)

Figura 16. Prevalencia relativa de *C. jejuni* y *C. coli* según el origen de las muestras (estudio 1)



Según se observa en la tabla 27, no se han encontrado diferencias significativas en relación a la prevalencia relativa de *Campylobacter* entre los distintos orígenes de las muestras.

Tabla 27. Test de Bonferroni (valor de *p*) comparando las prevalencias relativas (*C. jejuni/C. coli*) según el origen de las muestras (estudio 1)

Origen de la muestra	Cloaca/canal/ carne despiezada	Agua de escaldado	Maquinaria/ utensilios (durante el procesado)	Maquinaria/ utensilios limpios (durante el procesado)
Cloaca/canal/ carne despiezada	-	1,0	0,2	1,0
Agua de escaldado	1,0	-	1,0	1,0
Maquinaria/ utensilios (durante el procesado)	0,2	1,0	-	1,0
Maquinaria/ utensilios limpios (durante el procesado)	1,0	1,0	1,0	-

Estudio 2: variación de la prevalencia de *Campylobacter* a lo largo de la jornada de sacrificio

Como se detalló en la sección de material y métodos, en este estudio se tomaron muestras en las distintas zonas antes de comenzar el sacrificio de los broilers (matadero y sala de despiece limpios), así como durante el sacrificio y procesado de las aves a lo largo de la jornada (primer, tercer y último lote). De las 143 muestras tomadas de las instalaciones y utensilios del matadero y la sala de despiece limpios, solamente se logró aislar *Campylobacter* (*C. coli*) a partir de un cuchillo de la zona de evisceración.

Los resultados del muestreo del estudio 2 se exponen en la tabla 28, observándose un incremento de la prevalencia de *Campylobacter* en la zona de escaldado y evisceración desde el sacrificio del primer lote (25,0% y 61,1%, respectivamente) hasta el último lote (50,0% y 88,9%, respectivamente). Así, como ocurría en el estudio 1, se encontró la mayor prevalencia (88,9%) en la zona de evisceración durante el sacrificio del último lote. Si bien se observaron diferencias entre zonas, estas resultaron no significativas en todos los casos ($p>0,05$). Tampoco se hallaron diferencias significativas en la prevalencia de *Campylobacter* entre las muestras del primer y último lote consideradas de forma conjunta (sin diferenciar zonas) ($p=0,93$).

Tabla 28. Prevalencia de *Campylobacter* en cada zona del matadero durante toda la jornada de (estudio 2)

Zona	Momento muestreo	<i>Campylobacter</i>	
		Sí nº (%)	No nº (%)
Muelle de carga	Lote 1º	9 (75,0)	3 (25,0)
	Lote 3º	8 (66,7)	4 (33,3)
	Último lote	6 (50,0)	6 (50,0)
	<i>Total</i>	23 (63,9)	13 (36,1)
Zona de escaldado	Lote 1º	3 (25,0)	9 (75,0)
	Lote 3º	5 (41,7)	7 (58,3)
	Último lote	6 (50,0)	6 (50,0)
	<i>Total</i>	14 (38,9)	22 (61,1)
Zona de evisceración	Lote 1º	11 (61,1)	7 (38,9)
	Lote 3º	11 (61,1)	7 (38,9)
	Último lote	16 (88,9)	2 (11,1)
	<i>Total</i>	38 (70,4)	16 (29,6)
Zona de clasificado	Lote 1º	11 (57,9)	8 (42,1)
	Lote 3º	14 (77,8)	4 (22,2)
	Último lote	12 (66,6)	6 (33,3)
	<i>Total</i>	37 (67,3)	18 (32,7)
Zona de despiece /	Lote 1º	43 (69,4)	19 (30,6)

producto final ^a	Último lote ^b	34 (53,1)	30 (46,9)
	<i>Total</i>	77 (61,1)	49 (38,9)

^a Debido al número reducido de muestras a partir del producto final, se han unido estos resultados con los de la zona de despiece

^b Aunque se nombra como último lote, no existe una total convicción de que todas las canales pertenezcan a este lote debido a la pérdida de trazabilidad en esta zona. Por ello, no existen muestras del lote tres en esta zona

Por otro lado, los resultados para cada especie de *Campylobacter* según el momento del muestreo en cada zona son expuestos en la tabla 29. Así, como ocurre en el estudio 1, inicialmente se observa más prevalencia relativa de *C. jejuni* (51,9%) que *C. coli* (37,0%), siendo al final más frecuente *C. coli* (70,6%) que *C. jejuni* (28,2%). Debido a que la intensidad del muestreo fue mayor en el estudio 1 y a que en este estudio el objetivo fundamental fue evaluar si existían diferencias en la prevalencia a lo largo de la jornada, hemos obviado la realización del análisis estadístico por especies en este apartado.

Tabla 29. Resultados para cada especie de *Campylobacter* según el momento del muestreo durante toda la jornada de sacrificio en cada zona del matadero/sala de despiece (estudio 2)

Zona	Momento muestreo	<i>C. jejuni</i> ^b nº (%)	<i>C. coli</i> ^b Nº (%)	<i>Campylobacter</i> spp. nº (%)
Muelle de carga	Lote 1º	6 (54,5)	3 (27,3)	2 (18,2)
	Lote 3º	5 (62,5)	3 (37,5)	0 (0,0)
	Último lote	3 (37,5)	4 (50,0)	1 (12,5)
	<i>Total</i>	14 (51,9)	10 (37,0)	3 (11,1)
Zona de escaldado / evisceración ^a	Lote 1º	10 (58,8)	6 (35,3)	1 (5,9)
	Lote 3º	6 (31,6)	13 (68,4)	0 (0,0)
	Último lote	10 (34,5)	19 (65,5)	0 (0,0)
	<i>Total</i>	26 (40,0)	38 (58,5)	1 (1,5)
Zona de clasificado	Lote 1º	3 (25,0)	9 (75,0)	0 (0,0)
	Lote 3º	7 (38,9)	11 (61,1)	0 (0,0)
	Último lote	7 (58,3)	5 (41,7)	0 (0,0)
	<i>Total</i>	17 (40,5)	25 (59,5)	0 (0,0)
Zona de despiece / producto final ^a	Lote 1º	13 (28,3)	33 (71,7)	0 (0,0)
	Último lote ^c	11 (28,2)	27 (69,2)	1 (2,6)
	<i>Total</i>	24 (28,2)	60 (70,6)	1 (1,2)

^a Estas zonas se han unido debido al reducido número de resultados

^b Estos resultados incluyen las muestras en las que se han aislado las dos especies (*C. jejuni* + *C. coli*), sumándolos tanto a *C. jejuni* como a *C. coli*

^c Aunque se nombra como último lote, no existe una total convicción de que todas las canales pertenezcan a este lote debido a la pérdida de trazabilidad en esta zona. Por ello, no existen muestras del lote tres en esta zona

PERROS DE CLÍNICAS VETERINARIAS

Los datos descriptivos obtenidos a partir de las encuestas epidemiológicas realizadas en las clínicas veterinarias se muestran en la tabla 30.

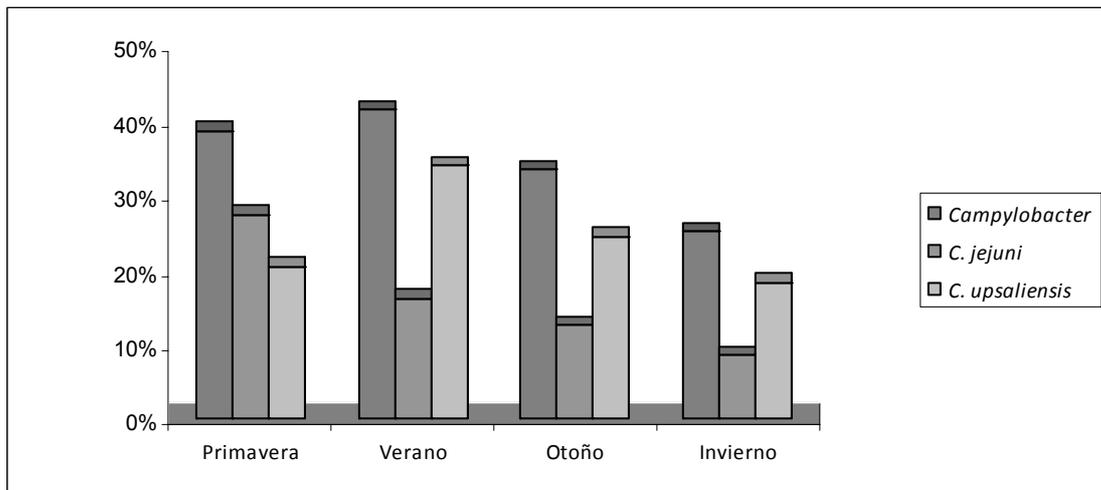
Tabla 30. Datos descriptivos del estudio realizado en perros domésticos de clínicas veterinarias

Variable categórica	Categoría	Distribución de frecuencias nº (%)
Estación del año	Primavera	101 (33,0)
	Verano	87 (28,4)
	Otoño	44 (14,4)
	Invierno	74 (24,2)
Edad del perro	< 2 meses	25 (8,2)
	2-6 meses	62 (20,3)
	7-12 meses	22 (7,2)
	1-2 años	29 (9,5)
	2-5 años	59 (19,3)
	>5 años	108 (35,3)
Sexo	Macho	155 (50,8)
	Hembra	150 (49,2)
Estado de salud	Enfermo	106 (35,0)
	Sano	197 (65,0)
Presentación de enfermedad entérica	Sí	37 (12,2)
	No	266 (87,8)
Niños <10 años conviviendo con el perro	Sí	98 (33,3)
	No	196 (66,7)

De las 306 muestras tomadas, 16 perdieron su viabilidad durante el procesamiento antes de ser identificadas. De las 290 muestras restantes, 102 (35,2%) fueron identificadas fenotípicamente como *Campylobacter* según la morfología colonial, tinción de Gram, motilidad en campo oscuro y pruebas de catalasa y oxidasa, confirmándose posteriormente mediante PCR no solo la identificación de los aislamientos sino también la especie de *Campylobacter*. De esta forma, de las 102 muestras positivas a *Campylobacter*, 40 (39,2%) se identificaron como *C. jejuni*, 60 (58,8%) como *C. upsaliensis* y dos (2%) como *Campylobacter* spp.

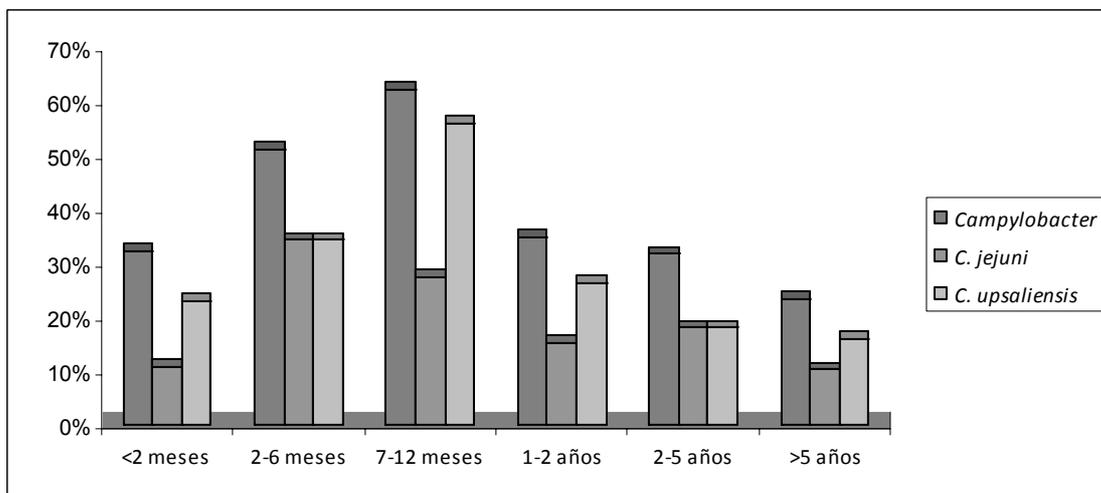
La figura 17 presenta la relación de *Campylobacter*, *C. jejuni* y *C. upsaliensis* con la estación del año en la que se realizó el muestreo, observándose la mayor prevalencia en primavera en el caso de *C. jejuni*, y en verano en el caso de *C. upsaliensis* y *Campylobacter*, considerando cualquier especie.

Figura 17. Relación entre la estación del año en la que se realizó el muestreo y la infección con *Campylobacter* en perros domésticos



Del mismo modo, en la figura 18 se muestra la relación de *Campylobacter*, *C. jejuni* y *C. upsaliensis* con la edad del perro muestreado. En este sentido, y en el caso de *C. jejuni*, se observó el mayor pico de infección entre los dos y los seis meses de edad, mientras que este pico se presentó entre los siete y los doce meses de edad para *C. upsaliensis* y *Campylobacter*.

Figura 18. Relación entre la edad y la infección con *Campylobacter* en perros domésticos



Mediante el test de Bonferroni se encontraron diferencias significativas en la prevalencia de infección con *Campylobacter*, *C. jejuni* y *C. upsaliensis* entre los perros de diferentes categorías de edad (tabla 31). Respecto a la estación del año, solo se observaron diferencias significativas en la prevalencia de infección con *C. jejuni* (tabla 32).

Tabla 31. Test de Bonferroni (valor de p) comparando la prevalencia (*Campylobacter/C. jejuni/C. upsaliensis*) en cada categoría de edad

Especie	Categoría	< 2 meses	2-6 meses	7-12 meses	1-2 años	2-5 años	>5 años
<i>Campylobacter</i>	< 2 meses	-	1,0	0,5	1,0	1,0	1,0
	2-6 meses	1,0	-	1,0	1,0	0,4	0,004*
	7-12 meses	0,5	1,0	-	0,7	0,2	0,008*
	1-2 años	1,0	1,0	0,7	-	1,0	1,0
	2-5 años	1,0	0,4	0,2	1,0	-	1,0
	> 5 años	1,0	0,004*	0,008*	1,0	1,0	-
<i>C. jejuni</i>	< 2 meses	-	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0
	2-6 meses	0,3	-	1,0	0,9	0,6	0,009*
	7-12 meses	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0
	1-2 años	1,0	0,9	1,0	-	1,0	1,0
	2-5 años	1,0	0,6	1,0	1,0	-	1,0
	> 5 años	1,0	0,009*	1,0	1,0	1,0	-
<i>C. upsaliensis</i>	< 2 meses	-	1,0	0,2	1,0	1,0	1,0
	2-6 meses	1,0	-	1,0	1,0	1,0	0,2
	7-12	0,2	1,0	-	0,4	0,02*	0,004*
	1-2 años	1,0	1,0	0,4	-	1,0	1,0
	2-5 años	1,0	1,0	0,02*	1,0	-	1,0
	> 5 años	1,0	0,3	0,004*	1,0	1,0	-

*Diferencia significativa en la prevalencia de *Campylobacter*

Tabla 32. Test de Bonferroni (valor de p) comparando la prevalencia (*Campylobacter/C. jejuni/C. upsaliensis*) en cada estación del año

Especie	Estación	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
<i>Campylobacter</i>	Primavera	-	1,0	1,0	0,4
	Verano	1,0	-	1,0	0,2
	Otoño	1,0	1,0	-	1,0
	Invierno	0,4	0,2	1,0	-
<i>C. jejuni</i>	Primavera	-	0,5	0,4	0,02*
	Verano	0,5	-	1,0	1,0
	Otoño	0,4	1,0	-	1,0
	Invierno	0,02*	1,0	1,0	-
<i>C. upsaliensis</i>	Primavera	-	0,3	1,0	1,0
	Verano	0,3	-	1,0	0,2
	Otoño	1,0	1,0	-	1,0
	Invierno	1,0	0,2	1,0	-

*Diferencia significativa en la prevalencia de *Campylobacter*

A continuación se muestran los resultados de la distribución de frecuencias de las variables incluidas en el cuestionario, así como los valores de Chi-cuadrado con su p asociada y de la Odds Ratio con su intervalo de confianza para establecer la existencia de asociación entre la infección con *Campylobacter* (tabla 33), con *Campylobacter jejuni* (sin incluir la infección con

otras especies de *Campylobacter*) (tabla 34) y de *C. upsaliensis* (sin incluir la infección con otras especies de este género) (tabla 35).

Tabla 33. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con *Campylobacter* en perros domésticos

Variable	Categoría	<i>Campylobacter</i>		Chi-cuadrado <i>P</i>	Odds Ratio	
		Sí nº (%)	No nº (%)		OR	IC _{95%}
Estación del año	Primavera	37 (38,5)	59 (61,5)	0,16	0,53	0,3-1,0
	Verano	33 (41,3)	47 (58,8)		0,48	0,2-1,0
	Otoño	14 (33,3)	28 (66,7)		0,67	0,3-1,5
	Invierno	18 (25,0)	54 (75,0)		^a	^a
Edad del perro	<2 meses	8 (32,0)	17 (68,0)	<0,01	0,64	0,2-1,7
	2-6 meses	30 (50,8)	29 (49,2)		0,29	0,1-0,6
	7-12 meses	13 (61,9)	8 (38,1)		0,19	0,1-0,5
	1-2 años	9 (34,6)	17 (65,4)		0,57	0,2-1,4
	2-5 años	17 (31,5)	37 (68,5)		0,65	0,3-1,4
	>5 años	24 (23,1)	80 (76,9)		^a	^a
Sexo	Macho	57 (38,3)	92 (61,7)	0,28	1,31	0,8-2,1
	Hembra	45 (32,1)	95 (67,9)		^a	^a
Estado de salud	Enfermo	41 (40,6)	60 (59,4)	0,13	1,47	0,9-2,5
	Sano	59 (31,7)	127 (68,3)		^a	^a
Enfermedad entérica	Sí	23 (62,2)	14 (37,8)	<0,01	3,69	1,8-7,6
	No	77 (30,8)	173 (69,2)		^a	^a
Niños <10 años conviviendo con el perro	Sí	33 (35,9)	59 (64,1)	0,81	1,07	0,6-1,8
	No	64 (34,4)	122 (65,6)		^a	^a

^a Categoría de referencia

Tabla 34. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con *C. jejuni* en perros domésticos

Variable	Categoría	<i>C. jejuni</i>		Chi-cuadrado <i>P</i>	Odds Ratio	
		Sí nº (%)	No nº (%)		OR	IC _{95%}
Estación del año	Primavera	22 (27,2)	59 (72,8)	0,03	4,03	1,4-11,4
	Verano	9 (16,1)	47 (83,9)		2,07	0,6-6,6
	Otoño	4 (12,5)	28 (87,5)		1,54	0,4-6,2
	Invierno	5 (8,5)	54 (91,5)		^a	^a
Edad del perro	<2 meses	2 (10,5)	17 (89,5)	0,02	1,05	0,2-5,3
	2-6 meses	15 (34,1)	29 (65,9)		4,60	1,8-11,6
	7-12 meses	3 (27,3)	8 (72,7)		3,33	0,7-14,9

	1-2 años	3 (15,0)	17 (85,0)		1,57	0,4-6,4
	2-5 años	8 (17,8)	37 (82,2)		1,92	0,7-5,4
	>5 años	9 (10,1)	80 (9,9)		^a	^a
Sexo	Macho	21 (18,6)	92 (81,4)	0,71	1,14	0,6-2,3
	Hembra	19 (16,7)	95 (83,3)		^a	^a
Estado de salud	Enfermo	17 (22,1)	60 (77,9)	0,17	1,64	0,8-3,3
	Sano	22 (14,8)	127 (85,2)		^a	^a
Enfermedad entérica	Sí	10 (41,7)	14 (58,3)	<0,01	4,26	1,7-10,5
	No	29 (14,4)	173 (85,6)		^a	^a
Niños <10 años conviviendo con el perro	Sí	8 (11,9)	59 (88,1)	0,16	0,55	0,2-1,3
	No	30 (19,7)	122 (80,3)		^a	^a

^a Categoría de referencia

Tabla 35. Distribución de frecuencias de las variables independientes y análisis univariable de la infección con *C. upsaliensis* en perros domésticos

Variable	Categoría	<i>C. upsaliensis</i>		Chi-cuadrado	Odds Ratio	
		Sí nº (%)	No nº (%)		P	OR
Estación del año	Primavera	15 (20,3)	59 (79,7)	0,14	1,14	0,5-2,7
	Verano	24 (33,8)	47 (66,2)		2,30	1,0-5,1
	Otoño	9 (24,3)	28 (75,7)		1,45	0,5-3,8
	Invierno	12 (18,2)	54 (81,8)		^a	^a
Edad del perro	<2 meses	5 (22,7)	17 (77,3)	<0,01	1,57	0,5-4,9
	2-6 meses	15 (34,1)	29 (65,9)		2,76	1,2-6,3
	7-12 meses	10 (55,6)	8 (44,4)		6,67	2,3-19,7
	1-2 años	6 (26,1)	17 (73,9)		1,88	0,6-5,6
	2-5 años	8 (17,8)	37 (82,2)		1,15	0,4-3,0
	>5 años	15 (15,8)	80 (84,2)		^a	^a
Sexo	Macho	34 (27,0)	92 (73,0)	0,31	1,35	0,8-2,4
	Hembra	26 (21,5)	95 (78,5)		^a	^a
Estado de salud	Enfermo	23 (27,7)	60 (72,3)	0,33	1,35	0,7-2,5
	Sano	36 (22,1)	127 (77,9)		^a	^a
Enfermedad entérica	Sí	13 (48,1)	14 (51,9)	<0,01	3,49	1,5-7,9
	No	46 (21,0)	173 (79,0)		^a	^a
Niños <10 años conviviendo	Sí	24 (28,9)	59 (71,1)	0,19	1,50	0,8-2,8
	No	33 (21,3)	122 (78,7)		^a	^a

^a Categoría de referencia

Asimismo, en la tabla 36 se pueden observar los modelos de regresión logística construidos a partir de las variables seleccionadas por el análisis univariable. Así, tanto para la

infección con cualquier especie del género *Campylobacter* como para la especie *C. upsaliensis* en perros domésticos las variables que determinan la prevalencia son la edad del perro y la presentación de enfermedad. En concreto, suponen un factor de riesgo para la infección el tener una edad entre dos y doce meses y el haber padecido recientemente o estar padeciendo una enfermedad entérica.

En relación a la especie *C. jejuni*, se incluyen en el modelo la estación del año y el hecho de padecer o haber padecido recientemente un proceso entérico, habiéndose encontrado la mayor prevalencia durante la primavera y en aquellos perros con proceso entérico.

Para verificar la bondad de ajuste del modelo se realizó el test de Hosmer-Lemeshow, obteniéndose para el modelo de *Campylobacter*, *C. jejuni* y *C. upsaliensis* los valores de *p* de 0,89, 0,99 y 0,9 respectivamente, concluyéndose que existe un buen ajuste entre lo predicho por el modelo y lo realmente observado.

Tabla 36. Modelos de regresión logística de la infección con *Campylobacter* en perros domésticos

Variable	Categoría	<i>Campylobacter</i> OR (IC _{95%})	<i>C. jejuni</i> OR (IC _{95%})	<i>C. upsaliensis</i> OR (IC _{95%})
Estación del año	Primavera	-	3,75 (1,3-10,8)	-
	Verano	-	1,82 (0,5-6,1)	-
	Otoño	-	1,39 (0,3-5,7)	-
	Invierno	-	^a	-
Edad del perro	< 2 meses	1,60 (0,6-4,2)	-	1,60 (0,5-5,1)
	2-6 meses	3,08 (1,5-6,2)	-	2,62 (1,1-6,1)
	7-12 meses	4,80 (1,8-13,3)	-	6,14 (2,0-18,5)
	1-2 años	1,73 (0,7-4,4)	-	1,83 (0,6-5,5)
	2-5 años	1,48 (0,7-3,1)	-	1,28 (0,5-3,3)
	>5 años	^a	-	^a
Enfermedad entérica	Sí	3,09 (1,5-6,5)	4,00 (1,6-10,2)	3,03 (1,3-7,2)
	No	^a	^a	^a

-, variable no significativa

^a Categoría de referencia

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Para el estudio de sensibilidad antimicrobiana en las especies de *Campylobacter* se han utilizado distintos métodos como la dilución en agar, la microdilución en caldo, la prueba

epsilometer (E-test) y la prueba de difusión en disco (Engberg y cols., 1999; Alfredson y cols., 2003; Halbert y cols., 2005).

El método de difusión en disco es simple y de bajo coste, y puede proporcionar resultados reproducibles si se lleva a cabo cuidadosamente con una estandarización adecuada y con controles de calidad (Caprioli y cols., 2000, Potz y cols., 2004). Sin embargo, en la actualidad, el método de dilución en agar se considera el método estándar para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana de las especies termófilas de *Campylobacter* (NCCLS, 2002; McDermott y cols., 2004), si bien este método es fiable y altamente reproducible supone un trabajo intensivo y de mayor coste (Caprioli y cols., 2000, McDermott y cols., 2005).

Granjas de broilers

La tabla 37 muestra la CMI_{Moda}, la CMI₅₀ y la CMI₉₀, así como el porcentaje de resistencia de los 50 aislamientos de *Campylobacter* analizados. La CMI_{Moda} es la CMI más frecuente, y la CMI₅₀ y CMI₉₀ son las CMI necesarias para inhibir el crecimiento del 50 y 90 por ciento de los aislamientos, respectivamente.

Tabla 37. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de 50 aislamientos de *Campylobacter* de granjas de broilers

Antibiótico	CMI _{Moda}	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Aislamientos resistentes (%)
Ciprofloxacina	16	32	128	100 (CMI>0,5)
Eritromicina	2	8	512	52,0 (CMI>4)
Estreptomina	1	4	256	50,0 (CMI>4)
Tetraciclina	256	256	512	94,0 (CMI>2)
Gentamicina	1	1	1	6,0 (CMI>2)
Enrofloxacin	4	4	16	100 (CMI>0,5) ^a

^aSe tomó el valor de corte de la ciprofloxacina, ya que no existen datos disponibles para este antibiótico

Así, la gentamicina resultó ser el antibiótico frente al que estos aislamientos de *Campylobacter* mostraron menor resistencia (6%), presentando la ciprofloxacina (100%), la enrofloxacin (100%) y la tetraciclina (94%) el mayor porcentaje de aislamientos resistentes.

Por otro lado, en la tabla 38 se puede observar el número de aislamientos por CMI (mg/L) para cada antibiótico.

Tabla 38. Distribución de los 50 aislamientos de *Campylobacter* de granjas de broilers por CMI (mg/L) para cada antibiótico

AB ^a	Número de aislamientos por CMI (mg/L) ^b															
	<0,06	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
CIP								2		17	10	13	6		2	
E						2	18	4	2	2	2	2	6	2	8	2
STRE		2				13	8	2		2	2	6	9	6		
TE							3		1				2	26	16	2
CN	2		1	2	13	27	2	1					2			
ENR							12	16	12	10						

^aAB: antibiótico, CIP: ciprofloxacina, E: eritromicina, STRE: estreptomycin, TE: tetraciclina, CN: gentamicina, ENR: enrofloxacin

^bLas casillas en color gris indican la CMI límite para considerar *Campylobacter* sensible: CIP≤0,5, E≤4, STRE≤4, TE≤2, CN≤2 (EUCAST, 2012). Para la ENR se tomo el valor de la CIP

Matadero de broilers

Como ya se ha señalado, para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* procedentes de la carne de pollo se diferenciaron las especies *C. jejuni* y *C. coli*, analizándose 30 aislamientos de cada una de ellas. En la tabla 39 se puede observar la CMI_{Moda}, la CMI₅₀, la CMI₉₀ y el porcentaje de resistencia de estos aislamientos de *Campylobacter* sin diferenciar especie (*C.jejuni+C.coli*), así como de *C. jejuni* y *C. coli* en la tabla 40.

Tabla 39. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* (*C. jejuni+C.coli*) aislados a partir de carne de pollo

Antibiótico	<i>Campylobacter</i>	CMI _{Moda}	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Aislamientos resistentes (%)
Ciprofloxacina	<i>C. jejuni+C.coli</i>	32	32	128	98,3 (CMI>0,5)
Eritromicina	<i>C. jejuni+C.coli</i>	128, 4	4	128	41,7 (CMI>4-8)*
Estreptomycin	<i>C. jejuni+C.coli</i>	2	16	128	56,7 (CMI>4-8)
Tetraciclina	<i>C. jejuni+C.coli</i>	64	64	512	98,3 (CMI>2)
Gentamicina	<i>C. jejuni+C.coli</i>	1	1	4	15,0 (CMI>2)

*CMI>4 para *C. jejuni* y CMI>8 para *C. coli*

Tabla 40. Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/L) y sensibilidad antimicrobiana de las especies de *Campylobacter* aisladas a partir de carne de pollo

Antibiótico	<i>Campylobacter</i>	CMI _{Moda}	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Aislamientos resistentes (%)
Ciprofloxacina	<i>C. jejuni</i>	32, 16	32	128	96,7 (CMI>0,5)
	<i>C. coli</i>	32	32	128	100 (CMI>0,5)
Eritromicina	<i>C. jejuni</i>	4	2	4	10,0 (CMI>4)
	<i>C. coli</i>	128	64	128	73,3 (CMI>8)
Estreptomycin	<i>C. jejuni</i>	2	2	256	36,7 (CMI>4)
	<i>C. coli</i>	128	64	128	76,7 (CMI>4)

Tetraciclina	<i>C. jejuni</i>	64	64	512	100 (CMI>2)
	<i>C. coli</i>	64	64	256	96,7 (CMI>2)
Gentamicina	<i>C. jejuni</i>	1	1	4	13,3 (CMI>2)
	<i>C. coli</i>	1	1	32	16,7 (CMI>2)

Así, el mayor porcentaje de resistencia fue detectado frente a la tetraciclina (100%) y la ciprofloxacina (100%) para *C. jejuni* y *C. coli*, respectivamente. Por el contrario, *C. jejuni* presentó el menor porcentaje de resistencia frente a la eritromicina (10%) y *C. coli* frente a la gentamicina (16,7%).

Asimismo, en la tabla 41 se puede observar la distribución del número de aislamientos según la CMI (mg/L) para cada antibiótico para *Campylobacter* (*C.jejuni*+*C.coli*). Del mismo modo, las tablas 42 y 43 muestran esta distribución para *C. jejuni* y *C. coli*, respectivamente.

Tabla 41. Distribución de los aislamientos de *Campylobacter* (*C.jejuni*+*C. coli*) de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico

AB ^a	Número de aislamientos por CMI (mg/L) ^b															
	<0,06	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
CIP	1								1	13	20	15	9	1		
E	8				2	5	6	12	2			10	12	3		
STRE						5	18	3	1	3	5	7	12	6		
TE					1					1	7	23	5	16	5	2
CN			1		9	31	10	4			2	3				

^aAB: antibiótico, CIP: ciprofloxacina, E: eritromicina, STRE: estreptomina, TE: tetraciclina, CN: gentamicina, ENR: enrofloxacin

^bLas casillas en color gris indican la CMI límite para considerar *Campylobacter* sensible: CIP≤0,5, E≤4 (*C.jejuni*), E≤8 (*C.coli*), STRE≤4, TE≤2, CN≤2 (EUCAST, 2012)

Tabla 42. Distribución de los 30 aislamientos de *C. jejuni* de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico

AB ^a	Número de aislamientos por CMI (mg/L) ^b															
	<0,06	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
CIP	1									9	9	7	3	1		
E	5				2	4	6	10				2	1			
STRE						5	11	3	1	1	1	2	2	4		
TE										1	5	9	2	6	5	2
CN			1		9	12	4	4								

^aAB: antibiótico, CIP: ciprofloxacina, E: eritromicina, STRE: estreptomina, TE: tetraciclina, CN: gentamicina, ENR: enrofloxacin

^bLas casillas en color gris indican la CMI límite para considerar *Campylobacter* sensible: CIP≤0,5, E≤4, STRE≤4, TE≤2, CN≤2 (EUCAST, 2012)

Tabla 43. Distribución de los 30 aislamientos de *C. coli* de carne de pollo por CMI (mg/L) para cada antibiótico

AB ^a	Número de aislamientos por CMI (mg/L) ^b															
	<0,06	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	>512
CIP									1	4	11	8	6			
E	3					1		2	2			8	11	3		
STRE							7			2	4	5	10	2		
TE					1						2	14	3	10		
CN						19	6				2	3				

^aAB: antibiótico, CIP: ciprofloxacina, E: eritromicina, STRE: estreptomina, TE: tetraciclina, CN: gentamicina, ENR: enrofloxacina

^bLas casillas en color gris indican la CMI límite para considerar *Campylobacter* sensible: CIP≤0,5, E≤8, STRE≤4, TE≤2, CN≤2 (EUCAST, 2012)

El 60 por ciento (36/60) de los aislamientos de *Campylobacter* (*C. jejuni*+*C. coli*) presentaron multirresistencia (resistencia frente a tres o más antibióticos), mostrando 11 de 30 (36,7%) aislamientos de *C. jejuni* y 25 de 30 (83,3%) aislamientos de *C. coli* multirresistencia antibiótica (resistentes a tres o más antibióticos) (tabla 44).

Tabla 44. Multirresistencia determinada para 30 aislamientos de *C. jejuni* y 30 de *C. coli* procedentes de carne de pollo

Aislamientos resistentes	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 3 o más antibióticos	11 (36,7)	25 (83,3)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 4 o más antibióticos	6 (20)	19 (63,3)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 5 antibióticos	1 (3,3)	5 (16,7)

Al comparar los resultados entre especies de *Campylobacter*, se encontró un mayor número de aislamientos de *C. coli* que de *C. jejuni* resistentes a todos los antibióticos estudiados excepto la tetraciclina. Sin embargo, solo se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas especies del género *Campylobacter* para la estreptomina ($p=0,002$) y la eritromicina ($p<0,0001$).

Perros de clínicas veterinarias

En la tabla 45 se exponen los resultados obtenidos sobre la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* de los perros domésticos según la técnica de difusión en disco. Así, la gentamicina y la eritromicina fueron los antibióticos frente a los que mostraron menor porcentaje de resistencia (2,2% y 3,3%, respectivamente), siendo todas las cepas resistentes a la combinación de sulfametoxazol con trimetoprim (100%).

Tabla 45. Resultados de la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* (*C.jejuni*+*C.upsaliensis*) de los perros domésticos

Antimicrobiano	Sensibles nº (%)	Intermedios nº (%)	Resistentes nº (%)
Ampicilina (10 µg)	38 (42,2)	12 (13,3)	40 (44,4)
Cefalotina (30 µg)	41 (45,1)	4 (4,4)	46 (50,5)
Ciprofloxacina (5 µg)	53 (58,2)	6 (6,6)	32 (35,2)
Clindamicina (2 µg)	57 (62,6)	16 (17,6)	18 (19,8)
Eritromicina (15 µg)	81 (89,0)	7 (7,7)	3 (3,3)
Gentamicina (10 µg)	89 (97,8)	0 (0,0)	2 (2,2)
Ácido nalidíxico (30 µg)	38 (41,8)	5 (5,5)	48 (52,7)
Trimetoprim/sulfametoxazol (25 µg)	0 (0,0)	0 (0,0)	91 (100)
Tetraciclina (30 µg)	57 (62,6)	6 (6,6)	28 (30,8)

Asimismo, en la tabla 46 se muestra la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de los perros por especies (*C. jejuni* y *C. upsaliensis*), constatándose una mayor resistencia de la especie *C. jejuni*.

Tabla 46. Resultados de la sensibilidad antimicrobiana de las especies de *Campylobacter* aisladas a partir de los perros domésticos

Antibiótico	<i>Campylobacter</i>	Aislamientos resistentes nº (%)	Valor de <i>p</i>
Ampicilina	<i>C. jejuni</i>	23 (59,0)	0,716
	<i>C. upsaliensis</i>	27 (55,1)	
Cefalotina	<i>C. jejuni</i>	37 (94,9)	<0,001
	<i>C. upsaliensis</i>	11 (22,0)	
Ciprofloxacina	<i>C. jejuni</i>	27 (69,2)	<0,001
	<i>C. upsaliensis</i>	10 (20,0)	
Clindamicina	<i>C. jejuni</i>	13 (33,3)	0,404
	<i>C. upsaliensis</i>	21 (42,0)	
Eritromicina	<i>C. jejuni</i>	3 (7,7)	0,350
	<i>C. upsaliensis</i>	7 (14,0)	
Gentamicina	<i>C. jejuni</i>	2 (5,1)	0,105
	<i>C. upsaliensis</i>	0 (0,0)	
Ácido nalidíxico	<i>C. jejuni</i>	30 (76,9)	0,002
	<i>C. upsaliensis</i>	22 (44,0)	
Trimetoprim/sulfametoxazol	<i>C. jejuni</i>	39 (100)	1
	<i>C. upsaliensis</i>	50 (100)	
Tetraciclina	<i>C. jejuni</i>	28 (71,8)	<0,001

El 51,7 por ciento (46/89) de los aislamientos de *Campylobacter* (*C. jejuni*+*C. upsaliensis*) presentaron multirresistencia (resistencia frente a cuatro o más antibióticos). En la tabla 47 se puede observar el mayor porcentaje de multirresistencia que presenta la especie *C. jejuni* con respecto a la especie *C. upsaliensis*.

Tabla 47. Multirresistencia determinada para 39 aislamientos de *C. jejuni* y 50 de *C. upsaliensis* procedentes de perros domésticos

Aislamientos resistentes	<i>C. jejuni</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 4 o más antibióticos	32 (82,1)	14 (28)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 5 o más antibióticos	29 (74,4)	10 (20)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 6 o más antibióticos	20 (51,3)	5 (10)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 7 o más antibióticos	7 (17,9)	0 (0)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 8 o más antibióticos	1 (2,6)	0 (0)
Nº (%) aislamientos resistentes frente a 9 antibióticos	1 (2,6)	0 (0)

DISCUSIÓN

GRANJAS DE BROILERS

El presente estudio incluye lotes de broilers procedentes de los distintos tipos de granjas que se pueden encontrar en Andalucía. Así, como se puede observar en los datos descriptivos, esta investigación comprende explotaciones con diferentes características en cuanto al manejo, instalaciones, medidas de bioseguridad y/o prácticas de higiene. Se puede concluir, en consecuencia, que el presente estudio ofrece una adecuada panorámica de la producción intensiva de broilers en Andalucía.

En referencia a la prevalencia de infección con *Campylobacter* por lotes (62,9%), nuestro resultado fue similar al hallado en otros estudios en Suecia, Senegal e Italia (60%, 63% y 63,9%, respectivamente) (Cardinale y cols., 2004; Di Giannatale y cols., 2010; Hansson y cols., 2010a). En contraste, se ha observado una prevalencia mayor en países como Luxemburgo (100%) (EFSA Journal, 2010), Irán (76,0%) (Ansari-Lari y cols., 2011) y Reino Unido (75,8%) (Powell y cols., 2012) y menor en los Países Bajos (26,3%) (Bouwknegt y cols., 2004), Finlandia (3,9%) (EFSA Journal, 2010) y Estonia (2%) (EFSA Journal, 2010). La prevalencia media de la infección en la Unión Europea (71,2%) (EFSA Journal, 2010) es ligeramente superior a la hallada en este estudio.

Respecto a España, se halló una prevalencia del 88 por ciento en un estudio previo (EFSA Journal, 2010). No obstante, es preciso señalar que este resultado se obtuvo a partir de lotes de broilers en mataderos, a diferencia del presente estudio en el que se muestrean lotes de broilers en granjas con diferentes edades, hecho que implica que los animales muestreados tengan más días de edad y, por lo tanto, mayor posibilidad de que estén infectados con *Campylobacter* (Ansari-Lari y cols., 2011).

En cuanto a la prevalencia de las distintas especies de *Campylobacter*, se encontraron más lotes infectados solo con *C. jejuni* (31,7%) que con *C. coli* (6,0%), resultado coincidente con el

descrito por la mayoría de los autores: Hald y cols. (2000) (87% *C. jejuni* y 8% *C. coli*), Cardinale y cols. (2004) (37% *C. jejuni* y 19% *C. coli*), Näther y cols. (2009) (29% *C. jejuni* y 13% *C. coli*) y Sasaki y cols. (2011) (39,5% *C. jejuni* y 17,7% *C. coli*), así como con los resultados publicados por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (40,6% *C. jejuni* y 31,9% *C. coli*) (EFSA Journal, 2010). Sin embargo, en España se ha detectado mayor prevalencia de *C. coli* (61,4%) que de *C. jejuni* (38,3%) (EFSA Journal, 2010). Estas variaciones entre estudios podrían ser debidas a los diferentes métodos de muestreo y detección de *Campylobacter* utilizados, así como a diferencias intrínsecas existentes entre las distintas regiones. En esta investigación se encontraron además infecciones mixtas con *C. jejuni* y *C. coli* en el 19,1 por ciento de los lotes estudiados. Este porcentaje está dentro del rango descrito previamente por otros autores, que oscila entre el uno por ciento descrito por Näther y cols. (2009) en Alemania y el 22 por ciento descrito por Ansari-Lari y cols. (2011) en Irán.

Por otra parte, Sasaki y cols. (2011) observaron que el 0,8 por ciento de los lotes se encontraban infectados con especies de *Campylobacter* que no pudieron ser identificadas como *C. jejuni* o *C. coli*. En este estudio, el 6,6 por ciento de los lotes se encontraban infectados exclusivamente con especies del género *Campylobacter* distintas a *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. ureolyticus*. Asimismo, se detectaron infecciones mixtas de *C. jejuni* y/o *C. coli* junto a otras especies no identificadas del género *Campylobacter* en un 36,7 por ciento de las muestras. Si bien algunos autores detectaron *C. lari* en una proporción reducida de las muestras (Hald y cols., 2000; Näther y cols., 2009), no fue posible identificar este agente en nuestro estudio. Este resultado podría ser debido a un escaso contacto de los broilers con las aves acuáticas peridomésticas que suponen el principal reservorio de esta especie (Moore y cols., 2002). Por otra parte, aunque hasta el momento no hay estudios publicados en los que se haya aislado *C. ureolyticus* a partir de broilers, se consideró interesante indagar la existencia de esta especie debido a su reciente papel como patógeno emergente asociado a casos clínicos en personas (Bullman y cols., 2011).

Con respecto al estudio de la prevalencia según la edad, no se encontraron lotes positivos a *Campylobacter* cuando los broilers eran menores de catorce días, resultado que coincide con lo descrito previamente en estudios previos (Jacobs-Reitsma y cols., 1995; Hiatt y cols., 2002b; Bull y cols., 2006). Este hecho puede ser explicado por la probable ausencia de transmisión vertical (Petersen y cols., 2001), así como por el papel protector de los anticuerpos maternos durante las primeras semanas de vida (Sahin y cols., 2002; Newell y Fearnley, 2003; Sahin y cols., 2003b). Por este motivo, se decidió excluir los lotes con broilers menores de catorce días

de edad en el estudio de los factores de riesgo. En contraste, se encontró una prevalencia intrarrebaño del 59,9 por ciento en lotes con animales entre catorce y 35 días y algo mayor en broilers con 36-50 días (61,3%), resultando en una prevalencia intrarrebaño media de 60,5 por ciento. Este dato se encuentra dentro del rango encontrado en estudios previos donde se observó que la prevalencia intrarrebaño osciló entre el 60 por ciento y el 100 por cien (Gregory y cols., 1997; Evans y Sayers, 2000; Shreeve y cols., 2002; Stern y cols., 2003; Hansson y cols., 2010b).

Campylobacter jejuni fue la especie aislada con mayor frecuencia en todas las edades, si bien su prevalencia se redujo desde un 60,2 por ciento en los animales con 14-35 días hasta un 52,2 por ciento en los de 36-50 días. En contraste, la prevalencia de *C. coli* se incrementó desde un 15,7 por ciento en los animales de 14-35 días hasta un 26,9 por ciento en los de 36-50 días. Este hecho podría explicarse por la existencia de cepas capaces de desplazar a otras en el tracto intestinal de los broilers (Calderon-Gomez y cols. 2008). En este sentido, nuestros resultados sugieren una progresiva sustitución con la de edad de cepas de *C. jejuni* por *C. coli*. Como resulta lógico, las infecciones mixtas de *C. jejuni* y *C. coli* también se incrementaron con la edad, desde un 3,1 por ciento hasta un cinco por ciento. Asimismo, también se observa una disminución con la edad de las especies de *Campylobacter* no identificadas, desde un 21 por ciento hasta un 15,8 por ciento, lo que sugiere una mayor persistencia con la edad de las especies mejor adaptadas al intestino de los broilers: *C. jejuni* y *C. coli*.

En relación a la estación del año, se ha descrito que ésta puede influir en la prevalencia de infección con *Campylobacter* en los lotes de broilers. Así, la mayoría de los estudios han encontrado más frecuencia de lotes positivos a *Campylobacter* durante los meses de verano (EFSA Journal, 2005; Ellerbroek y cols., 2011; Jorgensen y cols., 2011). En este sentido, nuestros resultados coinciden con los previamente descritos, al suponer el verano un factor de riesgo para la infección de los lotes de broilers (OR: 3,51, IC_{95%}: 1,4-8,7). Si bien la primavera se presentó también como un factor de riesgo, mostró un valor de Odds Ratio menor al del verano (OR: 2,38, IC_{95%}: 1,0-5,7).

Además, los meses de otoño supusieron un factor de protección para la infección de los broilers con *Campylobacter* (OR: 0,32, IC_{95%}: 0,2-0,5), aunque otros autores han relacionado esta estación con un mayor riesgo de infección de estos animales (Kapperud y cols., 1993). Estos resultados se explican por la existencia de un pico de crecimiento de la población de

insectos con temperaturas elevadas (Begon y cols., 1986). Hald y cols. (2008) señalaron que los insectos actúan como portadores de *Campylobacter* principalmente desde julio a agosto. Estos autores hallaron diferencias significativas entre la prevalencia de *Campylobacter* en los meses mencionados y la del resto del año. No obstante, en nuestro estudio la variable estación del año no fue incluida en el modelo de regresión logística, al no cumplir el criterio de selección en el análisis univariable ($p \leq 1$).

Así, el modelo de regresión logística determinado en esta investigación incluyó seis factores de riesgo: la presencia de perros/gatos en la granja, la edad de los animales (mayores de 30 días), la práctica de la despoblación parcial en cada lote, el uso de nebulizadores como sistema de refrigeración, las ventanas con persianas de lona y la existencia de menos de cinco líneas de bebederos en la nave.

En referencia a la variable perros/gatos en la granja se halló una prevalencia de *Campylobacter* significativamente mayor en lotes pertenecientes a granjas donde se encontraron dichos animales (OR: 2,49, IC_{95%}: 1,0-6,0) (Fig. 19). Este resultado coincide con el descrito por Hald y cols. (2000), quienes determinaron que la presencia de animales (incluidos perros y gatos) en las inmediaciones de las naves de broilers sin barreras higiénicas suponía un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter*. En este sentido, es bien conocido el papel de los animales de compañía como reservorios para las especies de *Campylobacter* (Rossi y cols., 2008; Acke y cols., 2009b; Koene y cols., 2009), suponiendo una potencial fuente de contaminación para los alrededores de la nave de broilers.

Asimismo, la excreción de *Campylobacter* por otras especies animales ha sido asociada significativamente con lotes de broilers infectados, siendo estas especies los reservorios de los que *Campylobacter* se aísla con mayor frecuencia previamente a la detección de este microorganismo en dichos lotes (Ellis-Iversen y cols., 2012). Las especies de este género excretadas por los animales podrían ser transportadas de forma mecánica por el personal de la granja mediante la ropa, el calzado u otros fómites (Newell y Wagenaar, 2000; Herman y cols., 2003; Ramabu y cols., 2004).

Figura 19. Presencia de perros/gatos en la granja



En este estudio se encontró una mayor prevalencia de infección en los broilers con más de 30 días de edad (OR: 4,76, IC_{95%}: 2,5-10). En este sentido, McDowell y cols. (2008) han señalado que el riesgo de infección con *Campylobacter* en un lote está directamente relacionado con la edad de los broilers. Nuestro resultado coincide con el descrito por Ansari-Lari y cols. (2011), quienes determinaron que la probabilidad de infección con *Campylobacter* era cinco veces más alta cuando los broilers tenían más de 45 días.

Igualmente, otros autores también han encontrado que la mayor edad supone un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* en broilers (Evans y Sayers, 2000; Bouwknecht y cols., 2004; Barrios y cols., 2006; Arsenault y cols., 2007a). La explicación más plausible a este resultado radica en que un mayor tiempo de exposición a las posibles fuentes de infección redundaría en una mayor probabilidad de infección (Ridley y cols., 2011). Por otra parte, se ha señalado que una vez que el lote está infectado, la infección se propaga rápidamente, resultando más fácil con el tiempo la infección de aquellos animales negativos (Newell y Fearnley, 2003; Katsma y cols., 2007).

Siguiendo con la explicación de las variables incluidas en el modelo, se encontró que la práctica de la despoblación parcial en cada lote suponía también un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* en los lotes de broilers (OR: 2,73; IC_{95%}: 1,4-5,2). En este sentido, la despoblación parcial antes del muestreo ha sido asociada con un incremento en el riesgo de infección con *Campylobacter* en lotes sacrificados en el matadero (Hald y cols., 2000; Hald y cols., 2001b; Lawes y cols., 2012). No obstante, Russa y cols. (2005) no encontraron asociación entre la despoblación parcial y la infección con *Campylobacter*, sugiriendo que la edad de los broilers al llegar al matadero podría ser una variable confundente. Sin embargo, la edad no

supondría una variable confundente en este estudio ya que la variable despoblación parcial se refiere a la práctica de esta actividad de forma habitual en cada lote criado en la granja, y no si se realizó antes del muestreo en el matadero como en la mayoría de los estudios.

Asimismo, el hecho de que el personal encargado de realizar la despoblación parcial deba ingresar en la nave, podría suponer una mayor exposición de las aves restantes a distintos agentes, incluido *Campylobacter*, procedentes del exterior, máxime si no se emplean medidas de bioseguridad adecuadas (Lin, 2009). En este sentido, Allen y cols. (2008b) aislaron *Campylobacter* en los caminos de entrada a la granja, los vehículos de transporte, el equipamiento y el personal, encontrando una asociación entre las cepas aisladas en estos puntos y las detectadas posteriormente en los lotes en los que se llevó a cabo la despoblación parcial. Esto se ve potenciado por el hecho de que habitualmente los operarios realizan la despoblación en varias granjas en un mismo día, con el consiguiente trasiego de diversos organismos. Así, algunos autores han descrito la coexistencia de cepas idénticas de *Campylobacter* en distintas granjas cuando pertenecían a la misma empresa integradora o se emplearon los mismos equipos de captura de las aves y/o vehículos (Allen y cols., 2008b).

El modelo de regresión logística incluyó dos variables relacionadas con el agua: el sistema de refrigeración y el número de líneas de bebederos. Así, la nebulización como medio de refrigeración de la nave mostró el valor Odds Ratio más alto del modelo (OR: 5,34, IC_{95%}: 2,0-14,3), aumentando en más de cinco veces la prevalencia de infección con *Campylobacter* en los lotes alojados en naves con este sistema de refrigeración. No hemos hallado hasta la fecha estudios publicados que hayan identificado al tipo de sistema de refrigeración como un factor de riesgo para la infección con este organismo en broilers. Una explicación a la inclusión de esta variable la encontramos en el estudio realizado por Berndtson y cols. (1996a), quienes observaron que si la yacija permanecía húmeda el riesgo de infección con *Campylobacter* aumentaba hasta dos veces. De esta forma, la nebulización implica que la yacija sobre la que viven los broilers se humedezca dado que pulveriza agua dentro de la nave, aumentando, por tanto, el riesgo de infección. Cabe señalar que las especies del género *Campylobacter* precisan una elevada actividad de agua para su crecimiento (Silva y cols., 2011).

Respecto al número de líneas de bebederos, el hecho de que la nave disponga de menos de cinco filas ha resultado ser un factor de riesgo en el presente estudio (OR: 2,78, IC_{95%}: 1,2-6,2). Como ocurre con la variable anterior, hasta el momento no se han encontrado

trabajos que hayan descrito la influencia significativa de este factor sobre la prevalencia de *Campylobacter*. Un número menor de líneas de bebederos implica una concentración más alta de broilers alrededor de un bebedero y, consecuentemente, más posibilidades de transmisión ya que las heces de los animales infectados constituyen una fuente de infección para el medio ambiente acuático (Jones, 2001). En este sentido, Ellis-Iversen y cols (2012) encontraron que la contaminación de los bebederos de las naves de broilers se asociaba con la infección del lote, probablemente por su papel en la distribución de *Campylobacter* dentro del lote de broilers.

Por último, las ventanas con persianas de lona supusieron un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* en los lotes de broilers de Andalucía (OR: 2,92, IC_{95%}: 1,4-6,1) (Fig. 20). Al igual que sucediera con las dos variables del modelo previamente descritas, no se han hallado otros estudios que hayan incluido esta variable. Así, los granjeros revelaron que las persianas de lona normalmente se encontraban plegadas cuando se realizó la limpieza y desinfección de las naves. Esto implica una higienización insuficiente de este tipo de instalaciones ya que los detergentes y desinfectantes no penetran de forma adecuada si las persianas se encuentran plegadas, pudiendo permanecer *Campylobacter* en ellas y pudiendo suponer, por tanto, una fuente de infección para el siguiente lote. De hecho, en este estudio se ha logrado el aislamiento de *Campylobacter* a partir de persianas de lona y no de otro tipo de persianas, si bien el lote estaba infectado cuando dicha contaminación fue detectada. En este sentido, hay varios autores que han encontrado que unas deficientes prácticas de limpieza y desinfección están asociadas con la infección con *Campylobacter* en los lotes de broilers (Evans y Sayers, 2000; Hansson y cols., 2010a).

Figura 20. Persianas de lona plegadas durante la limpieza y desinfección de la nave de broilers.



De las seis variables incluidas en el modelo, la edad no es susceptible de ser modificada, a la vez que la eliminación de la práctica de despoblación parcial podría entrar en conflicto con la rentabilidad de la granja, si bien sería necesario extremar las medidas de bioseguridad durante esta práctica. En consecuencia, las principales recomendaciones que derivan del estudio de factores de riesgo serían prescindir de perros/gatos en la granja, disponer de suficientes líneas de bebederos, emplear sistemas de refrigeración distintos a la nebulización y no utilizar persianas de lona o realizar una limpieza exhaustiva de dicho tipo de instalaciones con las persianas sin plegar. Controlar estos factores permitirá reducir la prevalencia de *Campylobacter* y, por tanto, disminuir la contaminación de las canales en el matadero y el riesgo de infección para los consumidores (Rosenquist y cols., 2003).

En relación a las muestras ambientales, los resultados obtenidos muestran que la yacija es el fómite donde la contaminación ambiental resultó más frecuente (25,8% de muestras positivas), seguida del agua de los bebederos (9,7%). En instalaciones como ventanas, paredes, puertas o tolvas se hallaron un nueve por ciento de muestras positivas, mientras que en otras muestras de diverso tipo como agua estancada o aves muertas la prevalencia fue del 14,8 por ciento.

A pesar de observar en ocasiones evidencias de falta de limpieza y desinfección, no fue posible encontrar muestras ambientales positivas en ninguna de las naves antes de detectar *Campylobacter* en las muestras cloacales. Este hecho indica que la limpieza, desinfección y vacío sanitario de las naves resultaría eficiente para la inactivación de *Campylobacter*. Este resultado coincide con los hallazgos de otros estudios (Evans y Sayers, 2000; Herman y cols., 2003; Cardinale y cols., 2004; Ellis-Iversen y cols., 2012), no habiendo autores que hayan detectado *Campylobacter* en el entorno interior de la nave antes de ser aislado en los broilers alojados en dicha nave. Sí se ha logrado, sin embargo, el aislamiento de *Campylobacter* a partir de bebederos de campana de plástico sin limpiar tras la desinfección de la nave (Evans y Sayers, 2000).

Asimismo, se han encontrado los mismos genotipos de *Campylobacter* en el exterior de las naves (charcos de agua, suelo y alrededores) que los aislados más tarde en los broilers cuando el lote resultó infectado (Hiatt y cols., 2002b; Russa y cols., 2005; Johnsen y cols., 2006a; Hansson y cols., 2007). En este sentido, algunos estudios sugieren que la fuente de contaminación del nuevo lote alojado en la nave limpia y desinfectada se encuentra en el exterior de la nave más que dentro de la misma (Jacobs-Reitsma y cols., 1995; Shreeve y cols.,

2002), aunque dada la relativa sensibilidad del método del muestreo ambiental, estos resultados no excluyen la posibilidad de que un pequeño número de estas bacterias permanezcan vivas en el interior de la nave.

Por el contrario, se ha descrito que una vez que un lote está infectado con *Campylobacter*, la nave y los alrededores de la granja se contaminan rápidamente (Hiett y cols., 2002b; Herman y cols., 2003), persistiendo esta contaminación durante varias semanas (Johnsen y cols., 2006a). Coincidiendo con los resultados de nuestro estudio, otros autores han aislado *Campylobacter* a partir del pienso de los comederos, agua de los bebederos y yacija una vez que los lotes estaban infectados (Bull y cols., 2006; Zweifel y cols., 2008). En relación a la yacija, aunque por su falta de humedad supone un ambiente desfavorable para *Campylobacter* al principio del ciclo productivo, el riesgo de contaminación aumenta cuando se humedece debido a los excrementos de los animales, el agua de los bebederos y/o el sistema de refrigeración (Berndtson y cols., 1996a). En este sentido, *Campylobacter* es capaz de sobrevivir en la yacija (Rothrock y cols., 2008), por lo que almacenarla en la granja puede suponer un riesgo de infección para los broilers (Cardinale y cols., 2004; Arsenault y cols., 2007a).

En contraste, el menor porcentaje de muestras positivas a *Campylobacter* se encontró en el pienso de los comederos (5,2%). Así, la mayoría de los estudios han sugerido que los piensos de los animales no suponen un reservorio para *Campylobacter* (Jacobs-Reitsma y cols., 1995; Gregory y cols., 1997; Evans y Sayers, 2000) ya que este alimento es demasiado seco para las bacterias sensibles a la desecación (Weijtiens y cols., 1997). Por el contrario, Mills y Phillips (2003) determinaron que si se contamina el pienso en la nave de broilers, *Campylobacter* podría sobrevivir el tiempo suficiente para causar infección dentro del lote. Asimismo, Ellis-Iversen y cols. (2012) observaron que los bebederos contaminados estaban asociados con los lotes de broilers positivos a *Campylobacter*, aunque encontraron que los bebederos solamente se contaminaron después de que los animales estuviesen infectados.

Además, coincidiendo con los resultados del presente estudio, Ellis-Iversen y cols. (2012) aislaron *Campylobacter* a partir de los útiles/herramientas de las granjas en menor proporción que en los bebederos, no encontrándose asociación con la infección de los lotes. Respecto a las especies aisladas, *C. jejuni* se aisló con más frecuencia (47,6%) que *C. coli* (28,6%). Este resultado parece lógico ya que la especie predominante encontrada en los lotes de broilers fue *C. jejuni*, por lo que la contaminación del entorno del interior de la nave tendría lugar sobre

todo con esta especie. Cabe mencionar que la prevalencia de *C. jejuni* y *C. coli* en muestras cloacales fue similar a la hallada en muestras ambientales (58,5% y 19,5%, respectivamente).

En relación al seguimiento de las granjas, en principio se planteó recomendar actuaciones sobre los factores de riesgo determinados en el estudio. Sin embargo, al deber ser realizado en granjas en producción, resultaba imposible variar el sistema de refrigeración, las líneas de bebederos o el tipo de persianas. También fue desestimada la proposición de suspender la despoblación parcial y los granjeros se mostraron reacios a deshacerse de sus perros y gatos.

En consecuencia, para cumplir con este objetivo se propusieron dos nuevas medidas: que la limpieza y desinfección de la nave fuese realizada por una empresa especializada y la utilización de pediluvios. Respecto a la primera medida, la desinfección por el granjero mostró una asociación significativa con la prevalencia de *Campylobacter* (OR: 3,38; IC_{95%}: 1,9-5,6) en el análisis univariable, si bien dicha variable no fue incluida en el modelo de regresión logística. Respecto a los pediluvios, se optó por esta medida buscando incrementar la bioseguridad de la granja considerando especialmente la importancia que podría tener durante el proceso de despoblación parcial.

Cuatro de las cinco granjas resultaron positivas a *Campylobacter* durante el primer ciclo productivo analizado. En este sentido, los veterinarios responsables de la única granja que resultó negativa explicaron que durante todo el periodo de cría los animales de este lote habían sido tratados con antibióticos, pudiendo ser la causa de este resultado (Ansari-Lari y cols., 2011). En cuanto a las granjas infectadas con *Campylobacter*, la prevalencia intrarrebaño aumentó a medida que los animales tenían mayor edad en la granja, oscilando en el último muestreo entre un 86,7 por ciento y un 100 por cien. Como ya se ha discutido anteriormente, este resultado coincide con otros autores (Gregory y cols., 1997; Evans y Sayers, 2000; Shreeve y cols., 2002; Stern y cols., 2003).

Tras las medidas propuestas, las granjas en las que se pudo continuar el seguimiento volvieron a presentarse positivas a *Campylobacter*, alcanzando una prevalencia intrarrebaño elevada (90-100%). Consideramos que este resultado fue debido a la incorrecta aplicación de las medidas por parte de los granjeros, ya que durante el muestreo se observó que el personal de la granja no siempre pasaba por el pediluvio antes de entrar a la nave y además, durante el vacío sanitario las naves permanecieron abiertas siendo posible la entrada de reservorios de *Campylobacter* como insectos, pájaros, perros o gatos (Newell y Fearnley, 2003).

Algunos autores han señalado que las medidas sanitarias y de bioseguridad deberían ser realizadas de forma rigurosas para reducir el riesgo de infección del lote (Van de Giessen y cols., 1998; Evans y Sayers, 2000). Al igual que sucediera en el estudio previamente descrito, no fue posible aislar agentes del género *Campylobacter* en muestras ambientales previamente a la detección de muestras cloacales positivas. Nos ha impactado haber observado que, tanto antes como después de la aplicación de las medidas, la prevalencia se redujo desde el último muestreo en las granjas (prevalencia media: 94,3%) hasta el muestreo en matadero (prevalencia media: 37,1%). En nuestra opinión, este descenso podría estar ocasionado por la administración de antibióticos en los días próximos a la llegada al matadero (Refrégier-Petton y cols. 2001), si bien en todos los casos el período de supresión fue respetado.

MATADERO DE BROILERS

La discusión de este apartado resulta compleja ya que las condiciones de sacrificio y procesado de canales varían entre países en mayor medida que la producción de broilers en las granjas. Asimismo, la metodología de muestreo y de análisis de las muestras mostró mayor variación en este tipo de estudios. Todo ello redundaría en una mayor heterogeneidad entre estos trabajos.

La contaminación de la carne de pollo se produce durante el sacrificio y el procesado de los broilers en matadero a partir de la materia fecal de animales infectados con *Campylobacter* o a lo largo de toda la cadena debido a las contaminaciones cruzadas (Johannessen y cols., 2007). En este sentido, algunos autores han aislado los mismos genotipos durante la cría de los broilers en la granja que posteriormente en el medio ambiente del matadero, demostrando que *Campylobacter* es introducido a través de los lotes de broilers positivos (Klein y cols., 2007; Lienau y cols., 2007). En el presente estudio fue posible aislar *Campylobacter* en todas las etapas del sacrificio y procesado, resultado coincidente con estudios previos en España (Melero y cols., 2012) y otros países (Damjanova y cols., 2011).

En cuanto a las muestras de origen animal (*estudio 1*), el procesado de las canales de broilers en el matadero supuso un ligero incremento en la prevalencia de *Campylobacter* en el producto final (62,7%) en relación a la prevalencia observada inicialmente a partir de las muestras cloacales (59,4%). Así, mientras algunos autores han observado que las operaciones del procesado en el matadero son capaces de reducir la prevalencia de *Campylobacter* en las

canales de broilers (Hinton y cols., 2004, Osaili y cols., 2012), otros han encontrado que el nivel de contaminación se incrementa durante el procesado (Ellerbroek y cols., 2010). Sin embargo, ninguno de estos procedimientos son completamente efectivos para eliminar *Campylobacter* de las canales, por lo que es posible encontrar este organismo en la carne de pollo lista para su distribución y venta (Rosenquist y cols., 2006).

La prevalencia inicial encontrada (59,4%) se encuentra dentro del rango descrito previamente en otros estudios, que oscila desde un 47,5 por ciento (Hue y cols., 2011) hasta un 77,2 por ciento (Hue y cols., 2010). En referencia a la prevalencia de *Campylobacter* en el producto final (62,7%), no se han encontrado estudios en España que indiquen la prevalencia al final del procesado, aunque sí en el producto en establecimientos de venta directa al consumidor, donde se describe una prevalencia similar (59%) (Melero y cols., 2012). En contraste, Mateo y cols. (2005) encontraron un mayor porcentaje (73,5%), mientras que la prevalencia observada por Domínguez y cols. (2002) no alcanzó el 50 por ciento. Respecto a la prevalencia en otros países, oscila desde un 33 por ciento en Japón (Sasaki y cols., 2013) hasta un 96,7 por ciento en Alemania (Ellerbroek y cols., 2010).

De acuerdo con lo expuesto por Kudirkiene y cols. (2011), quienes consideraron que la principal vía de contaminación cruzada de las canales de broilers era el agua de escaldado con *Campylobacter*, se observó un incremento en la prevalencia en la zona de escaldado (69,2%) con respecto a la prevalencia inicial (59,4%). La contaminación en esta fase revierte mayor importancia debido a que el agua de escaldado no solo contamina la superficie de las canales con *Campylobacter*, sino también el tejido muscular (Humphrey, 1992). En contraste, hay autores que describen que el escaldado puede reducir la contaminación de las canales con *Campylobacter* (Guerin y cols., 2010; Loretz y cols., 2010). Por otra parte, se ha comprobado que la temperatura de este agua (52 °C) no permite la multiplicación de *Campylobacter*, que solo es posible entre 32 y 43° C (Anónimo, 1995).

La mayor prevalencia de *Campylobacter* se encontró en la zona de evisceración (79,1%), pudiéndose considerar esta área un punto de control crítico en el matadero de acuerdo con otros estudios (Allen y cols., 2007; Frederick y Huda, 2011). Así, en este estudio se observaron diferencias significativas entre la prevalencia de *Campylobacter* hallada en la zona de evisceración y la prevalencia encontrada tanto a nivel del muelle de carga ($p=0,008$) como en la existente en el producto final ($p= 0,029$).

El intestino de los broilers puede ser colonizado por un elevado número de microorganismos de este género (Reich y cols., 2008), suponiendo la principal fuente de contaminación para las canales durante el procesado en el matadero. En este sentido, la fase de evisceración resulta particularmente crítica, ya que el contenido gastrointestinal que contenga *Campylobacter* puede contaminar la carne de pollo, especialmente si se produce la rotura accidental del tracto digestivo. Este hecho puede darse durante la evisceración si la máquina no está correctamente ajustada al tamaño de la canal (Rosenquist y cols., 2006). Así, la existencia de pesos heterogéneos en un lote de broilers puede ser debido a enfermedades como coccidiosis o enteritis necrótica, que pueden dañar el tracto digestivo o causar adhesiones entre vísceras (Russell, 2003). De igual modo, Malher y cols. (2011) concluyeron que un lote de broilers con un peso de canales homogéneo reduciría las roturas del tracto intestinal y la subsiguiente contaminación.

Seguidamente, la prevalencia de *Campylobacter* tras el enfriamiento de las canales (67,4%) (zona de clasificado), disminuyó respecto a la zona anterior (79,1%) (zona de evisceración). Este resultado coincide con lo descrito por la mayoría de los autores (Stern y Robach, 2003; Oyarzabal y cols., 2004; Son y cols., 2007; Frederick y Huda, 2011). La causa más probable radica en que durante el enfriamiento se reduce la contaminación de las canales con *Campylobacter* a causa de la desecación y la exposición al oxígeno. En contraste, Ellerbroek y cols. (2010) observaron una prevalencia mayor tras el enfriamiento de las canales (96,7%) respecto al escaldado (91,1%). Por último, Fluckey y cols. (2003) no hallaron variaciones en la contaminación de las canales con *Campylobacter* durante el enfriamiento de éstas mediante aire seco. Aunque la desecación y el oxígeno podrían reducir la contaminación con *Campylobacter* de la superficie de las canales, algunas cepas de *Campylobacter* son capaces de desarrollar un sistema de protección enzimática frente al estrés oxidativo (Park, 2002). Asimismo, la contaminación cruzada de las canales de broilers también puede ocurrir durante el enfriamiento a partir de instalaciones o aire contaminado (Berndtson y cols., 1996b).

A continuación, se observó un leve incremento en la prevalencia de *Campylobacter* en la zona de despiece (71,7%) respecto a la zona de clasificado (67,4%), debido probablemente a la existencia de múltiples contaminaciones cruzadas que se producirían durante el despiece al pasar las canales de distintos animales por sucesivos equipos.

Finalmente, en el producto final la prevalencia se redujo hasta un 62,7 por ciento, hecho que puede explicarse por el mantenimiento del producto en cámaras con una temperatura de

1-1,5° C y expuestas al oxígeno ambiental para ser envasado o vendido a granel. Estos hallazgos coinciden con los resultados presentados por Melero y cols. (2012), quienes encontraron un incremento de hasta un 100 por cien en el despiece, continuado por una reducción hasta un 59 por ciento en el producto final.

En cuanto a las muestras ambientales (*estudio 1*), la maquinaria y utensilios de la zona de evisceración fueron los que presentaron mayor prevalencia de *Campylobacter* (81,4%), suponiendo así la principal fuente de contaminación. Esto es lógico ya que, como se ha descrito anteriormente, esta área se puede considerar un punto de control crítico debido a que un gran número de bacterias pueden encontrarse en el tracto digestivo de los broilers, contaminando las canales y, por consiguiente, el medio ambiente de esta zona. En relación a las demás muestras ambientales, algo más de la mitad de las muestras del agua de escaldado resultaron positivas a *Campylobacter* (51%), encontrándose en la zona de clasificado y de despiece un resultado similar (57,7% y 59,6%, respectivamente). Del mismo modo, otros estudios también han aislado *Campylobacter* a partir del agua de escaldado y de las instalaciones del matadero durante el procesado (Newell y cols., 2001; Stern y cols., 2001b; Takahashi y cols., 2006; Klein y cols., 2007; Lienau y cols., 2007; Elvers y cols., 2011). Además, el hecho de que en este estudio se haya detectado *Campylobacter* en superficies limpias durante el procesado puede explicarse, como han sugerido algunos autores (Johnsen y cols., 2007; Kudirkiene y cols., 2011), por el hecho de que estos organismos puedan estar presentes en aerosoles que contaminarían las distintas zonas del matadero.

Se ha demostrado que las especies pertenecientes al género *Campylobacter* poseen la capacidad de adherirse a la piel de las canales (Chantarapanont y cols., 2003; Jang y cols., 2007), así como a las superficies de las instalaciones de las industrias alimentarias (Kalmokoff y cols. 2006; Gunther y Chen, 2009), bien sean de acero inoxidable (Kusumaningrum y cols., 2003), polipropileno (Cools y cols., 2005), vidrio (Joshua y cols., 2006; Gunther y Chen, 2009) u otros materiales. La mayoría de las muestras ambientales tomadas en la presente investigación procedían de maquinaria de acero inoxidable. Al respecto, Nguyen y cols. (2010) demostraron que si microorganismos del género *Campylobacter* se mantenían en contacto durante un minuto con este tipo de material, se producía la adherencia de un elevado número de bacterias, sugiriendo por tanto que *Campylobacter* puede establecerse rápidamente sobre este tipo de superficies. Existen estudios que han encontrado los mismos genotipos de *Campylobacter* en las superficies de las instalaciones del matadero y en la carne de pollo al

final del sacrificio (Kudirkiene y cols., 2010), confirmándose así la existencia de contaminaciones cruzadas.

Es sabido que *Campylobacter* no puede crecer ni sobrevivir adecuadamente en el medio ambiente durante largos periodos de tiempo (Alter y Scherer, 2006; Humphrey y cols., 2007), y que es sensible a los desinfectantes más comunes usados en la industria alimentaria (Peyrat y cols., 2008a). Sin embargo, el conocimiento sobre los mecanismos de supervivencia de *Campylobacter* es limitado, no habiéndose encontrado los reguladores de los sistemas de defensa frente al estrés ambiental que sí presentan otras bacterias como *Salmonella* o *E. coli* (Murphy y cols., 2006). En este sentido, la habilidad de *Campylobacter* para formar biofilms sobre diferentes superficies, además de su capacidad para entrar en un estado viable pero no cultivable (VPNC) son mecanismos que podrían proteger a *Campylobacter* y permitir que este organismo sobreviva a temperaturas y condiciones desfavorables (Murphy y cols., 2006; Humphrey y cols., 2007; Reeser y cols., 2007).

La mayoría de los estudios acerca del género *Campylobacter* realizados en mataderos y plantas de procesamiento de canales de broilers se han centrado en la especie *C. jejuni* y sus distintos genotipos (Kudirkiene y cols., 2011; Jong y cols., 2012; Kudirkiene y cols., 2012; Melero y cols., 2012), aunque también existen investigaciones que analizan la prevalencia de las especies *C. jejuni* y *C. coli* (Garin y cols., 2012). Además, aunque en este estudio solo fue posible identificar *C. jejuni* y *C. coli*, otros autores han aislado *C. lari* (Hue y cols., 2011; Garin y cols., 2012) y *C. upsaliensis* (Garin y cols., 2012).

Según nuestros resultados, *C. coli* presentó mayor prevalencia que *C. jejuni* (tanto en muestras de origen animal como ambientales). Si bien *C. jejuni* fue la especie aislada con mayor frecuencia en el inicio a partir de las muestras cloacales de los broilers, en el producto final fue *C. coli* la que presentó mayor prevalencia. La mayoría de los estudios señalan que la especie *C. jejuni* presenta mayor prevalencia que *C. coli* a lo largo de toda la cadena de producción (Wirz y cols., 2010; Hue y cols., 2011). En contraste, *C. coli* fue la especie aislada con mayor frecuencia en España, Italia y Bulgaria (EFSA Journal, 2010). Por otra parte, Garin y cols. (2012) observaron que según el matadero estudiado difería la especie de *Campylobacter* más prevalente. Sin embargo, el resultado que sorprende en nuestro estudio es la variación de prevalencia relativa a lo largo del procesado a favor de *C. coli*, que casi duplica su porcentaje en el producto final respecto a *C. jejuni*, sugiriéndose como explicación una mayor resistencia de *C. coli* a las condiciones existentes en el procesado de las aves. En este sentido, estudios en

Irlanda hallaron resultados similares, incrementándose la prevalencia relativa de *C. coli* desde un 26,1 por ciento hasta un 54 por ciento durante el procesado (EFSA Journal, 2010).

Aunque con un nivel de confianza del 95 por ciento no se encontraron diferencias significativas entre zonas del matadero consecutivas, a un nivel de confianza del 90 por ciento la diferencia en la prevalencia de *C. jejuni* y *C. coli* entre el inicio (muelle de carga) y el área siguiente (zona de escaldado) ($p=0,066$) se mostró significativa, apuntando que posiblemente los aislamientos de *C. coli* de esta investigación son capaces de sobrevivir de forma más eficaz a la temperatura del agua de escaldado (52 °C) que los aislamientos de *C. jejuni*. En contraste, Hue y cols., 2011 no encontraron diferencias significativas entre *C. jejuni* y *C. coli*, no habiéndose hallado otras publicaciones que señalen la existencia de diferencias significativas entre estas especies de *Campylobacter* durante el procesado en el matadero.

Estudios de genotipificación de especies del género *Campylobacter* han demostrado que se produce una considerable reducción en el número de genotipos durante el procesado (Hiett y cols., 2002b; Klein y cols., 2007; Kudirkiene y cols., 2010; Melero y cols., 2012), lo que parece sugerir que se seleccionan solamente aquellas cepas más resistentes. En este sentido, varios autores han señalado que la resistencia al estrés ambiental (temperaturas elevadas o reducidas, pH, oxígeno) en el género *Campylobacter* resulta variable según la cepa y el genotipo (Newell y cols., 2001; Alter y cols., 2005; Klein y cols., 2007), por lo que el incremento de la prevalencia relativa de *C. coli* durante el procesado en este estudio podría estar relacionada con las diferencias genéticas entre cepas de las distintas especies. En concreto, se ha descrito la existencia de una elevada variabilidad antigénica en la superficie de los flagelos o en los lipooligosacáridos de la membrana celular, estructuras que condicionan la capacidad de adhesión de estas bacterias a las canales y superficies inertes del matadero (Parkhill y cols., 2000; Fouts y cols., 2005). Sería conveniente estudiar los mecanismos específicos asociados al incremento de la prevalencia relativa de *C. coli* durante el sacrificio y procesado de las canales en el matadero.

En cuanto a la prevalencia de *Campylobacter* y a la prevalencia relativa de las especies *C. jejuni* y *C. coli*, no se han hallado diferencias significativas entre los distintos orígenes de las muestras, ya fueran de tipo animal (cloaca, canales y carne despiezada) o ambientales (agua de escaldado, maquinaria y utensilios). Esto es razonable ya que se ha comprobado que pueden encontrarse un gran número de estos organismos en cloaca (Rosenquist y cols., 2006), de igual forma que puede adherirse tanto a las canales de los broilers (Chantarapanont y cols.,

2003; Jang y cols., 2007) como a las superficies de distintos tipos de materiales presentes en la industria alimentaria (Kalmokoff y cols., 2006; Gunther y Chen, 2009; Nguyen y cols., 2010).

En cuanto al *estudio 2*, de las 143 muestras tomadas de las instalaciones y utensilios del matadero y sala de despiece desinfectados, solo una muestra resultó positiva a *Campylobacter*. Concretamente, se aisló *C. coli* a partir de un cuchillo de la zona de evisceración. Así, ya que se ha descrito que la zona de evisceración es un punto de control crítico, sería necesario extremar la limpieza en esta área. De acuerdo con otros estudios, *Campylobacter* puede sobrevivir en el medio ambiente incluso después de la limpieza y desinfección del matadero, ya que algunas cepas son capaces de resistir a la inactivación que suponen los desinfectantes con compuestos de amonio cuaternario, los más utilizados en mataderos de broilers (Peyrat y cols., 2008b, Kudirkiene y cols., 2011). En este sentido, se ha descrito que estas cepas podrían protegerse de la actividad biocida mediante la formación de biofilms (Buswell y cols., 1998; Trachoo y Frank, 2002). Además, se ha demostrado que los mismos genotipos de *Campylobacter* encontrados en el medio ambiente del matadero después de la desinfección, pueden contaminar las canales (Johnsen y cols., 2006b; Peyrat y cols., 2008a).

Asimismo, en el *estudio 2* se observó un aumento de la prevalencia media de *Campylobacter* entre el sacrificio del primer lote y el último de la jornada en las zonas de escaldado y evisceración. Este dato resulta especialmente significativo debido a que los animales del primer lote presentaron de media mayor frecuencia de infección con *Campylobacter* que los del último. Este hecho puede explicarse porque a medida que transcurre la jornada, los equipos y utensilios contactan de forma progresiva con las canales, que actuarían como fuente potencial de contaminación, lo que supondría un incremento continuo de bacterias adheridas a la superficie de estos equipos y utensilios (Kudirkiene y cols., 2011). Estos equipos, a su vez, serían una fuente de contaminación para las canales negativas a *Campylobacter*. En este sentido, Sasaki y cols. (2013) demostraron que si los lotes negativos frente a esta infección se sacrificaban antes que los positivos, se reducía de forma significativa la prevalencia de *Campylobacter* en el producto final. Asimismo, Miwa y cols. (2003) señalaron que la contaminación cruzada con *Campylobacter* podía ocurrir entre dos lotes de broilers sacrificados de forma consecutiva, sugiriendo que los productos resultantes de ambos lotes podrían llegar a estar contaminados con este organismo.

Como se ha descrito en el estudio 1, la zona de evisceración fue el área donde se encontró mayor prevalencia de *Campylobacter*, suponiendo un punto de control crítico. En relación a las especies de *Campylobacter*, coincidiendo de nuevo con el estudio 1, al inicio del sacrificio se observó mayor prevalencia relativa de *C. jejuni* (51,9%), siendo *C. coli* (70,6%) más frecuente en la zona final. Este hallazgo reafirma que los aislamientos de *C. coli* detectados en este estudio resultan más resistentes que los de *C. jejuni* frente a las condiciones existentes a lo largo del procesado. Cabe señalar que debido al reducido número de muestras, en el estudio 2 se analizaron de forma conjunta las muestras de origen animal y ambientales. Por el mismo motivo, es posible que las diferencias en la prevalencia entre zonas y entre el momento del muestreo (sacrificio del primer, segundo y último lote) no se mostraron significativas, siendo necesarias un mayor número de muestras para obtener resultados concluyentes.

Así, ya que los casos de campilobacteriosis humana se producen sobre todo mediante el consumo de carne de pollo fresca sin cocinar suficientemente y a través de la manipulación de la carne de pollo cruda (Kapperud y cols., 2003; Sheppard y cols., 2009), sería necesario disminuir la contaminación con *Campylobacter* en este producto para reducir, en consecuencia, el número de casos de campilobacteriosis.

PERROS DE CLÍNICAS VETERINARIAS

Conocer la prevalencia de *Campylobacter* en los perros domésticos resulta necesario para adoptar una estrategia sanitaria eficaz frente a este agente zoonótico. La prevalencia de *Campylobacter* en perros domésticos obtenida en este estudio fue de un 35,2 por ciento. Este resultado muestra que la infección con especies de este género es común en los perros domésticos de Córdoba.

La prevalencia obtenida se encuentra dentro del rango descrito en perros muestreados en clínicas veterinarias, que oscila desde un 14 por ciento hasta un 38,1 por ciento (Sahanukool y cols., 2012; Salihu y cols., 2010; Parsons y cols., 2010; Rahimi y cols., 2012; Fernández y Oval, 2013). En contraste, se ha observado que la prevalencia de *Campylobacter* en perros que viven en perreras o refugios resulta más elevada, variando entre un 41,2 por ciento (Wieland y cols. 2005) y un 87 por ciento (Acke y cols., 2006). En este sentido, Parsons y cols. (2011) estudiaron la prevalencia de *Campylobacter* en perros antes y después de entrar en refugios, encontrando una mayor frecuencia de infección una vez que estos animales se alojaron en estos lugares. Una vez infectados, la mayoría de los perros permanecieron infectados durante su estancia.

En relación a las especies de *Campylobacter* encontradas en este trabajo, *C. upsaliensis* fue la que presentó una mayor frecuencia (58,8%), seguida de *C. jejuni* (39,2%). Esta mayor prevalencia de *C. upsaliensis* coincide con la mayoría de los estudios de *Campylobacter* en perros (Sandberg y cols., 2002; Hald y cols., 2004; Wieland y cols., 2005; Rossi y cols., 2008; Acke y cols., 2009b; Chaban y cols., 2010; Parsons y cols., 2010; Salihu y cols., 2010; Parsons y cols., 2011, Rahimi y cols., 2012). Solamente Steinhauserova y cols. (2000) y Tsai y cols. (2007) han encontrado mayor prevalencia de *C. jejuni* que de *C. upsaliensis*. En este sentido, la corta duración relativa de la infección con *C. jejuni* comparada con la de *C. upsaliensis* encontrada por Parsons y cols. (2011) y Hald y cols. (2004) sugiere que *C. jejuni* actúa provocando una infección transitoria, mientras que *C. upsaliensis* sería un comensal intestinal. La prevalencia relativa de *C. upsaliensis* oscila según las distintas publicaciones entre un 9,3 por ciento (Tsai y cols., 2007) y un 98 por ciento (Parsons y cols., 2010), mientras que la de *C. jejuni* varió, según los mismos autores, entre un dos y un 86,8 por ciento.

No se han detectado en este estudio infecciones mixtas en un mismo perro con dos o más especies del género *Campylobacter*. Este resultado coincide con el publicado por Workman y cols. en 2005, si bien otros autores señalan la existencia de coinfecciones hasta en un tercio de los perros positivos (Sahanukool y cols., 2012). En este sentido, Koene y cols. (2004) sugirió que la detección de coinfecciones se incrementaría empleando una combinación de métodos de aislamiento y procesando las muestras antes de cuatro horas tras su recogida.

En nuestro estudio, no se logró la identificación de la especie en una baja proporción (2%) de aislamientos de *Campylobacter*. El resultado coincide con otros estudios en los que incluso se emplearon primers para la identificación de otras especies como *C. coli* y *C. lari* (Hald y cols., 2004; Wieland y cols., 2005; Acke y cols., 2009b). No obstante, Chaban y cols. (2010) aislaron hasta catorce especies diferentes del género *Campylobacter* en perros: *C. upsaliensis*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. helveticus*, *C. lari*, *C. curvus*, *C. hyointestinalis*, *C. rectus*, *C. concisus*, *C. fetus*, *C. gracilis*, *C. mucosalis*, *C. showae* y *C. sputorum*. En este estudio solo se han incluido para la identificación molecular los primers del género *Campylobacter* y de las especies *C. jejuni* y *C. upsaliensis*, las más frecuentemente aisladas a partir de perros.

En relación al estudio de factores de riesgo, se observó que la primavera suponía un factor de riesgo solo para la infección con la especie *C. jejuni* en perros, siendo significativa la diferencia en la prevalencia de este agente entre las estaciones de primavera e invierno según el test de Bonferroni. Si bien la estación no aparece en los modelos de regresión logística de

Campylobacter y *C. upsaliensis*, cabe señalar que la máxima prevalencia en ambos casos se presentó en verano. Discutiremos exclusivamente la estación del año para *C. jejuni*, ya que solo para esta especie la variable fue incluida en el modelo final. En este sentido, el resultado coincide con el descrito por Sandberg y cols. (2002), quienes observaron mayor frecuencia de perros infectados con *Campylobacter* en primavera, por lo que supuso un factor de riesgo. Estudios realizados en Argentina (Lopez y cols., 2002) e Irán (Rahimi y cols., 2012) describen una mayor prevalencia durante los meses de verano si bien, coincidiendo con nuestros resultados, no hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las estaciones.

Del mismo modo que se ha observado en perros, ha sido descrita una tendencia estacional de la campilobacteriosis en humanos (Green y cols., 2006), con un mayor número de casos durante los meses de primavera y verano (Jonsson y cols., 2010; Jore y cols., 2010; Nakari y cols., 2010; EFSA Journal, 2012). La estacionalidad observada podría explicarse por el rango de temperatura en que los microorganismos del género *Campylobacter* crecen, que se sitúa entre los 30 y los 42 °C (Silva y cols., 2011). En contraste, este organismo es sensible a la desecación, condición que en la zona de estudio se encuentra presente principalmente durante el verano (Moriarty y cols., 2011).

Continuando la explicación del modelo de regresión logística, la edad fue incluida tanto para el género *Campylobacter* considerando todas las especies como para la especie *C. upsaliensis*. En este sentido, los intervalos de edad 2-6 meses, y 7-12 meses supusieron factores de riesgo. Aunque esta variable no fue incluida en el modelo logístico de *C. jejuni*, en el estudio descriptivo se observó que la edad de presentación más frecuente para esta especie tuvo lugar entre los dos y seis meses, en contraste con *Campylobacter* y *C. upsaliensis* que mostraron el pico de prevalencia entre los siete y los doce meses.

Coincidiendo con nuestros resultados, varios autores han señalado que la prevalencia de infección en perros resulta mayor en animales menores de un año (Hald y cols., 2004; Workman y cols., 2005; Rahimi y cols., 2012; Sahanukool y cols., 2012). En contraste, en algunos estudios no se han hallado diferencias significativas en la prevalencia de *Campylobacter* según la edad del perro (Tsai y cols., 2007; Salihu y cols., 2010). Por otra parte, Wieland y cols. (2005) encontraron que la edad suponía un factor de riesgo para la infección con la especie *C. upsaliensis* pero no para *C. jejuni*.

La dinámica de infección según la edad podría ser explicada del siguiente modo: los perros de menos de dos meses estarían protegidos en cierto modo por la inmunidad calostrual, por lo que la prevalencia sería baja. Tras la desaparición de la inmunidad, los animales serían más sensibles, incrementándose en consecuencia la prevalencia que, como observamos, es máxima entre los dos y los doce meses. A partir de esta edad, el contacto previo de los perros con especies de este género habría ocasionado la aparición de anticuerpos, aumentando en consecuencia la resistencia a la infección y produciéndose una reducción en la prevalencia.

La última variable incluida en el modelo fue la presentación de enfermedad entérica, que se presentó como un factor de riesgo común para la infección de *C. jejuni*, *C. upsaliensis* y, en consecuencia, para la infección con cualquier especie del género *Campylobacter* en perros. Este resultado es controvertido, ya que mientras algunos autores han hallado indicios de la asociación entre infección y enfermedad entérica (Burnens y cols., 1992; Guest y cols., 2007; Chaban y cols., 2010), otros no observaron relación alguna (Sandberg y cols., 2002; Engvall y cols., 2003; Workman y cols., 2005; Acke y cols., 2006; Rossi y cols., 2008; Parsons y cols., 2009; Parsons y cols., 2010; Rahimi y cols., 2012). Asimismo, Acke y cols. (2009b) hallaron diferencias en virtud de la especie, mostrando *C. jejuni* mayor prevalencia en perros con procesos entéricos y *C. upsaliensis* en perros sanos. Por otra parte, algunos autores incluso han sugerido que los perros con diarrea se asocian negativamente con la infección con *Campylobacter* debido al 'efecto lavado' causado por este signo clínico (Wieland y cols., 2005). En este sentido, algunos autores han observado que estar en contacto con un perro con diarrea suponía un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* en humanos (Saeed y cols., 1993; Adak y cols., 1995).

Cabe señalar que el estudio llevado a cabo demuestra una asociación entre la infección con *Campylobacter* y la presentación de un proceso entérico, aunque no precisa la direccionalidad de la misma. Así, parece más lógico pensar que sería la infección la que provocaría el proceso entérico y no que la enfermedad daría lugar a la infección, como ocurriría con las otras variables incluidas en los modelos. En este sentido, para conocer la direccionalidad de la asociación sería necesario un estudio experimental o un estudio de cohortes.

Coincidiendo con la mayoría de autores que han estudiado la relación entre el sexo del animal y la infección con *Campylobacter* no se hallaron diferencias significativas (Guest y cols.,

2007; Salihu y cols., 2010; Parsons y cols., 2010; Parsons y cols., 2011). Sin embargo, Hald y cols. (2004) observaron una prevalencia significativamente mayor en machos que en hembras.

En nuestro estudio, no se encontró relación entre el contacto de los perros con niños menores de diez años y la infección con *Campylobacter*. Si bien se ha descrito que para los niños el contacto con un perro puede suponer un factor de riesgo de infección con *Campylobacter* (Tenkate y Stafford, 2001; Tam y cols., 2009), pocos estudios han observado la direccionalidad contraria (que los niños supongan un factor de riesgo para la infección con *Campylobacter* en perros) (Damborg y cols., 2004).

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Granjas de broilers

Según se indicó en la sección de material y métodos, se estudió la sensibilidad antimicrobiana frente a seis antibióticos de 50 aislamientos de *Campylobacter* procedentes de cloaca de broilers de 50 granjas diferentes. El mayor porcentaje de resistencia se detectó frente a la ciprofloxacina, no habiéndose detectado ningún aislamiento sensible frente a este antibiótico (100%). Este resultado es similar al encontrado en España según el informe de la EFSA de 2012 (EFSA Journal, 2012b), mostrando *C. jejuni* frente a la ciprofloxacina un 92 por ciento de resistencia y *C. coli* un 100 por cien. Sáenz y cols. (2000) hallaron en España cifras realmente similares a partir de aislamientos de *Campylobacter* procedentes de broilers y cerdos, observándose que un 99 por ciento de los aislamientos mostraban resistencia frente a la ciprofloxacina.

En cuanto a la otra quinolona incluida en el estudio, la enrofloxacin, no se ha señalado el valor de corte que establezca que cepas son sensibles o resistentes, de modo que se empleó aquel descrito para la ciprofloxacina ($CMI \leq 5$) (EUCAST, 2012). Con este criterio, también el cien por cien de los aislamientos resultaron resistentes frente a la enrofloxacin. Existen estudios que han determinado la resistencia frente a la enrofloxacin de aislamientos procedentes de broilers mediante la prueba de difusión en disco, encontrándose una resistencia menor a la hallada en nuestro estudio (42,2% para *C. jejuni* y 75% para *C. coli*) (Pezzotti y cols., 2003).

En este sentido, aunque el 100 por cien de los aislamientos se hayan presentado resistentes frente a la ciprofloxacina y la enrofloxacin en el presente estudio, los valores de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) necesarias para inhibir el crecimiento del 50

(CMI₅₀) y 90 (CMI₉₀) por ciento de los aislamientos, fueron mayores para la ciprofloxacina (CMI₅₀=32 mg/L y CMI₉₀=128 mg/L) que para la enrofloxacin (CMI₅₀=4 mg/L y CMI₉₀=16 mg/L). Las concentraciones necesarias para inhibir al 50 y 90 por ciento de los aislamientos fueron mayores en nuestro estudio que en el realizado por Avrain y cols. (2003a): CMI₅₀=0,25 mg/L y CMI₉₀=8 mg/L.

Varios autores han descrito como la aprobaci3n del uso de quinolonas en aves dom3sticas en Europa y Estados Unidos dio lugar a un aumento de resistencia de las cepas de *Campylobacter* aisladas tanto en animales como en humanos frente a este grupo de antibióticos (Nachamkin y cols., 2002; Smith y Fratamico, 2010). En este sentido, Lubert y cols. (2003) llevaron a cabo una investigaci3n en Alemania con cepas aisladas a partir de pollos, presentando *C. coli* un porcentaje de resistencia frente a ciprofloxacina del cero por ciento en el a1o 1991, incrementándose hasta un 70,6 por ciento en el a1o 2001. Si bien *C. jejuni* también present3 un incremento de resistencia frente a este antibiótico, no result3 tan elevado (Lubert y cols., 2003). En contraste, sorprende el reducido porcentaje de aislamientos de *C. jejuni* resistentes frente a ciprofloxacina (2%) hallado en Finlandia (EFSA Journal, 2012b).

En cuanto a la tetraciclina, una amplia mayoría de los aislamientos seleccionados (94%) mostraron resistencia. En este sentido, nuestros resultados coinciden con otros publicados previamente en Espa1a, donde el 85 por ciento de aislamientos de *C. jejuni* y el 95 por ciento de *C. coli* presentaron resistencia frente a la tetraciclina (EFSA Journal, 2012b). As3, varios autores han descrito a lo largo de los a1os un incremento de cepas resistentes frente a tetraciclina (Avrain y cols., 2003a; Lubert y cols., 2003), si bien en algunos pa3ses de Europa el porcentaje de resistencia resulta sensiblemente menor (41% en Hungría) e incluso existen pa3ses como Finlandia donde no se han encontrado cepas resistentes frente a este antibiótico (EFSA Journal, 2012b). En estudios previos se se1alaron concentraciones m3nimas inhibitorias menores que las descritas en este estudio (CMI₅₀=256 mg/mL y CMI₉₀=512 mg/L) para la tetraciclina (Avrain y cols., 2003a).

El antibiótico frente al que los aislamientos de *Campylobacter* de granjas mostraron menor resistencia fue la gentamicina (6%). En este sentido, publicaciones previas no encontraron en broilers aislamientos resistentes de *Campylobacter* frente a este antibiótico (Avrain y cols., 2003a; Lubert y cols., 2003), aunque Angelovski y cols. (2011) se1alaron en un estudio m3s reciente una resistencia menor del dos por ciento. Asimismo, estudios previos en Espa1a han mostrado un porcentaje similar de resistencia (4%) (EFSA Journal, 2012b). En relaci3n a los

valores de CMI₅₀ y CMI₉₀, Luber y cols. (2003) observaron valores similares a los hallados en el presente estudio para la gentamicina (CMI₅₀ y CMI₉₀=1 mg/L).

Por otra parte, los aislamientos de *Campylobacter* procedentes de granjas mostraron un elevado porcentaje de resistencia frente a la eritromicina (52%). En este sentido, aunque Pezzotti y cols. (2003) observaron en cepas aisladas de broilers un porcentaje similar de *C. coli* resistentes frente a eritromicina (45%), apenas encontraron resistencia cuando estudiaron cepas de *C. jejuni* (3,1%). De igual forma, Avrain y cols. (2003a) observaron para *C. jejuni* un 0,3 por ciento de aislamientos resistentes, mientras que para *C. coli* el porcentaje de resistencia fue de un 31 por ciento. Según el informe de la EFSA de 2012 (EFSA Journal, 2012b), España fue el país que presentó un mayor porcentaje de aislamientos resistentes frente a la eritromicina, con un seis por ciento para *C. jejuni* y un 34 por ciento para *C. coli*, siendo Hungría el único país donde ni *C. jejuni* ni *C. coli* mostraron resistencia frente a este antibiótico (EFSA Journal, 2012b). De igual modo, se han encontrado concentraciones mínimas inhibitorias menores (CMI₅₀ y CMI₉₀) para este antibiótico en estudios previos que las halladas en el nuestro (Avrain y cols., 2003a; Luber y cols., 2003).

Respecto a la estreptomocina, en nuestro estudio se halló un 50 por ciento de aislamientos resistentes frente a este antibiótico, porcentaje menor al señalado en otros países de Europa (Bardon y cols., 2009; Angelovski y cols., 2011). Este antibiótico presentó un elevado valor de concentración mínima inhibitoria necesario para inhibir el 90 por ciento de los aislamientos (CMI=256 mg/L), siendo incluso mayor que el observado en este estudio para las fluoroquinolonas, antibióticos que presentaron el mayor porcentaje de resistencia.

Se ha descrito que la razón de la diversidad en cuanto a la presentación de resistencias entre distintas cepas del género *Campylobacter* radica en mecanismos genéticos para la transformación natural y la conjugación, transfiriéndose rápidamente entre bacterias los genes de resistencia frente a los antibióticos (Taylor, 1992). Asimismo, se ha descrito la adquisición de algunos determinantes de resistencia antimicrobiana a partir de bacterias no pertenecientes al género *Campylobacter* (Taylor y Courvalin, 1988; Zilhao y cols., 1988), incorporándose dichos determinantes al genoma mediante intercambio genético heterólogo (Taylor, 1992).

Matadero de broilers

Este estudio se realizó a partir de 30 aislamientos de *C. jejuni* y 30 de *C. coli* procedentes del producto final (carne de pollo) tras el procesado de los broilers en el matadero, evaluándose los mismos antibióticos que en el estudio de granjas con excepción de la enrofloxacin. Si bien el uso de dicho antibiótico resulta frecuente en las granjas de broilers, no sucede así para el tratamiento de las personas, y dado que se incluía otro antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas (la ciprofloxacina), que es el antibiótico de elección de este grupo para el tratamiento de la campilobacteriosis en humanos, se optó por eliminar la enrofloxacin para este estudio.

El mayor porcentaje de resistencia se detectó frente a la tetraciclina y la ciprofloxacina (98,3% para ambos), resultados similares a los descritos en granjas (100% y 94% para la ciprofloxacina y tetraciclina, respectivamente). Asimismo, las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) necesarias de ciprofloxacina para inhibir el crecimiento del 50 y 90 por ciento de los aislamientos mostraron el mismo valor en el estudio de granjas y matadero (CMI₅₀=32 mg/L, CMI₉₀=128 mg/L). En contraste, para la tetraciclina solo la CMI₉₀ presentó un valor igual (CMI₉₀=512 mg/L), observándose una CMI₅₀ mayor en granjas que la encontrada en el estudio de matadero (CMI₅₀=256 y 64 mg/L, respectivamente).

Al realizarse el estudio por especies, se observó que el 100 por cien de los aislamientos de *C. jejuni* y el 96,7 por ciento de los aislamientos de *C. coli* fueron resistentes frente a tetraciclina, mientras que el 96,7 por ciento de *C. jejuni* y el 100 por cien de *C. coli* mostraron resistencia frente a la ciprofloxacina. Para ninguno de los dos antibióticos se encontraron diferencias significativas entre *C. jejuni* y *C. coli*. Melero y cols. (2012) realizaron en España un estudio de sensibilidad antimicrobiana de cepas de *C. jejuni* aisladas a partir de carne de pollo, encontrando igualmente un alto porcentaje de aislamientos resistentes frente a la tetraciclina (81,8%) y la ciprofloxacina (95,5%). En contraste, Guerin y cols. (2012) observaron un porcentaje menor de resistencia frente a la ciprofloxacina (39% para *C. jejuni* y 60,7% para *C. coli*).

En estudios previos realizados en Europa tanto para la ciprofloxacina como para la tetraciclina también se observó un menor porcentaje de aislamientos resistentes (Van Looveren y cols., 2001; Luber y cols., 2003; Wilson, 2003). Concretamente, para la tetraciclina se encontró desde un diez por ciento en los Países Bajos hasta un 55 por ciento en Eslovenia, y para la ciprofloxacina desde un 17 por ciento en Dinamarca hasta un 83 por ciento en Polonia

para la especie *C. jejuni* (EFSA Journal, 2012b). Sin embargo, para *C. coli* el porcentaje de resistencia en los Países Bajos fue mayor, alcanzando un 84 por ciento y un 100 por cien frente a la tetraciclina y la ciprofloxacina, respectivamente (EFSA Journal, 2012b).

La gentamicina fue el antibiótico frente al que mostraron menor resistencia los aislamientos de *Campylobacter* de carne de pollo (15%) al igual que sucediera en granjas (6%). Asimismo, el valor de la CMI₅₀ fue el mismo en el estudio de granjas y matadero (CMI₅₀=1 mg/L), si bien se observó una menor CMI₉₀ para los aislamientos de granjas que para los de matadero (CMI₉₀=1 mg/L y 4 mg/L, respectivamente). El 13,3 por ciento de los aislamientos de *C. jejuni* y el 16,7 por ciento de los de *C. coli* fueron resistentes frente a este antibiótico, no existiendo diferencias significativas entre ambas especies. Asimismo, Saénz y cols. (2000) encontró en España resultados similares a los nuestros. Además, el informe de la EFSA de 2012 (EFSA Journal, 2012b) señaló un 0,7 por ciento de media de resistencia frente a la gentamicina en aislamientos de carne de pollo, si bien no se incluyeron datos de España para obtener este resultado.

En cuanto a la eritromicina el 41,7 por ciento de los aislamientos de carne de pollo fueron resistentes, porcentaje algo menor del obtenido con los aislamientos de granjas (52%). Del mismo modo, los valores de CMI₅₀ y CMI₉₀ resultaron menores en el estudio de matadero (CMI₅₀=4 mg/L y CMI₉₀=128 mg/L) que en el estudio de granjas (CMI₅₀=8 mg/L y CMI₉₀=512 mg/L). Sin embargo, se han encontrado diferencias muy marcadas entre *C. jejuni* y *C. coli*: mientras que el 73,3 por ciento de los aislamientos de *C. coli* resultaron resistentes, este porcentaje se redujo hasta el 10 por ciento en el caso de *C. jejuni*. Las diferencias entre ambas especies resultaron significativas ($p < 0,0001$). En este sentido, Ge y cols. (2003) y Saenz y cols. (2000) también encontraron que *C. coli* presentó significativamente mayor resistencia que *C. jejuni* frente a este antibiótico, si bien existen estudios donde estas diferencias no resultaron significativas (Tang y cols., 2009).

Finalmente, el porcentaje de resistencia frente a la estreptomina en aislamientos de carne de pollo fue del 56,7 por ciento, cifra similar a la observada en granjas (50%). Sin embargo, la CMI₅₀ fue mayor para los aislamientos de matadero que los de granjas (CMI₅₀=16 y 4 mg/L, respectivamente), sucediendo lo contrario con la CMI₉₀, donde se observa un valor mayor en el estudio de granjas que en el de matadero (CMI₉₀=256 y 128 mg/L, respectivamente). Al realizar el estudio por especies, nuevamente encontramos importantes diferencias entre *C. jejuni*, que presentaron un 36,7 de aislamientos resistentes, y *C. coli*, para

el que esta cifra se incrementó hasta un 76,7%. Las diferencias entre ambas especies resultaron significativas ($p=0,002$). Melero y cols. (2012) observaron un porcentaje marcadamente menor (4,5%) de resistencia en aislamientos de *C. jejuni* procedentes de la carne de pollo frente a la estreptomomicina. Del mismo modo, Angelovski y cols. (2011) señalaron un porcentaje de resistencia menor tanto para *C. jejuni* (3,4%) como para *C. coli* (17,4%), encontrando diferencias significativas entre especies al igual que en nuestro estudio. En contraste, Tang y cols. (2009) no hallaron diferencias significativas entre ambas especies en cuanto a la resistencia frente a la estreptomomicina.

Campylobacter coli se mostró por lo general más resistente frente a los antibióticos que *C. jejuni*, coincidiendo con estudios previos (Pezzotti y cols., 2003; D'lima y cols., 2007; Kim y cols., 2008), si bien las razones por las que *C. coli* presenta mayor resistencia no están claras hasta la fecha.

Respecto a la presentación de multirresistencia antibiótica (aislamientos resistentes a tres o más antibióticos), presentaron esta condición el 36,7 por ciento de los aislamientos de *C. jejuni* y el 83,3 por ciento de los de *C. coli*. En este sentido, Van Looveren y cols. (2001) encontraron a partir de cepas de *Campylobacter* aisladas de carne de ave y de cerdo que el 20,3 por ciento de las cepas de *C. jejuni* y el 33,9 por ciento de las cepas de *C. coli* aisladas eran multirresistentes. Este resultado resulta semejante en cuanto a que *C. coli* mostró un mayor porcentaje de multirresistencia, pero difiere en cuanto al porcentaje de multirresistencia para cada especie, que resultó marcadamente superior en nuestro estudio. En contraste, Son y cols. (2007) encontraron que *C. jejuni* mostró más multirresistencia antibiótica que *C. coli*.

Además, coincidiendo con nuestro resultado, Van Looveren y cols. (2001) encontraron que cuando los aislamientos presentaban multirresistencia frente a tres o cuatro antibióticos, la gentamicina era el antibiótico frente al que todos ellos mostraban sensibilidad. En este sentido, Padungton y Kaneene (2003) señalaron que la resistencia de *Campylobacter* frente a más de un grupo de agentes antimicrobianos puede ser el resultado de plásmidos transmisibles entre bacterias o mecanismos de eflujo.

Perros de clínicas veterinarias

Como se indicó en la sección de material y métodos, para el estudio de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Campylobacter* procedentes de perros se utilizó la prueba de difusión en disco. En este sentido, Luangtongkum y cols. (2007) señalaron que

existía un alto nivel de correlación entre el método de dilución en agar y el de difusión en disco para la evaluación de la sensibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos, fluoroquinolonas/quinolonas, eritromicina, clindamicina y tetraciclina, sugiriendo que la prueba de difusión en disco puede emplearse como una alternativa fiable y más económica.

En esta parte del estudio se evaluó la sensibilidad antimicrobiana frente a nueve antimicrobianos de los 91 aislamientos de perros que pudieron ser recuperados para la realización de esta parte del estudio (11 aislamientos se perdieron tras haber sido congelados).

Así, los antibióticos frente a los que los aislamientos de *Campylobacter* procedentes de perros mostraron mayor resistencia fueron el trimetoprim/sulfametoxazol (100%), seguido del ácido nalidíxico (52,7%). Estos resultados son coherentes con otros estudios en perros que encontraron un porcentaje de resistencia medio-alto frente al ácido nalidíxico y el trimetoprim/sulfametoxazol (Tsai y cols., 2007; Acke y cols., 2009a; Krutkiewicz y cols., 2009). Sin embargo, hay autores que han encontrado menor resistencia tanto frente al ácido nalidíxico (14%) como al trimetoprim/sulfametoxazol (21%) (Sahanukool y cols., 2012).

Además, como ocurría para los aislamientos de los broilers y la carne de pollo, la gentamicina presentó el menor porcentaje de resistencia en aislamientos de perros (2,2%). En este sentido, la reducida resistencia de las cepas del género *Campylobacter* frente a la gentamicina ha sido señalada por Lee y cols. (2004).

Respecto a la eritromicina, el porcentaje de resistencia hallado en aislamientos de perros (3,3%) ha sido notablemente inferior que el observado en nuestro estudio en granjas de broilers (52%) y en carne de pollo (41,7%). Esta diferencia está probablemente asociada al extendido uso de macrólidos empleados en avicultura para el control de un proceso frecuente como es la enfermedad crónica respiratoria (CRD) (Mavromati y cols., 2011; Amer y cols., 2012). Varias publicaciones coinciden con nuestros resultados en el sentido de señalar una reducida resistencia de aislamientos de perros frente a la eritromicina (Lee y cols., 2004; Acke y cols., 2009a, Krutkiewicz y cols., 2009; Andrzejewska y cols., 2013). En contraste, Tsai y cols. (2007) y Kumar y cols. (2012) encontraron un elevado porcentaje de aislamientos resistentes frente a este antibiótico en perros.

Por otra parte, aunque la ampicilina no se suele emplear en el tratamiento de la infección con *Campylobacter* (Blaser, 1995), la resistencia frente a este antibiótico hallada en estudios

previos en perros oscila entre un cero y un 13,7por ciento (Sandberg y cols., 2002; Acke y cols., 2009a), siendo marcadamente mayor el porcentaje hallado en nuestro estudio (44,4%).

Respecto a la clindamicina, existe una elevada diferencia entre el porcentaje de resistencia encontrado en el presente trabajo (19,8%) y lo observado por otros autores también en perros (87,9%) (Tsai y cols., 2007), no habiendo encontrado una explicación para semejante diferencia.

Un 50,5 por ciento de los aislamientos de perros mostraron resistencia frente a la cefalotina, resultado que contrasta con el de Aquino y cols. (2002), quienes no observaron resistencia en aislamientos de *Campylobacter* procedentes de personas y animales, incluido perros, frente a la cefotaxima, otro antibiótico del grupo de las cefalosporinas.

Aproximadamente un tercio (35,2%) de los aislamientos obtenidos en nuestro estudio resultaron resistentes frente a la ciprofloxacina. Nuestro resultado se encuentra dentro del amplio rango de resistencia descrito para este antibiótico, que oscila entre el 18,2 por ciento encontrado por Tsai y cols. (2007) y el 80,4 por ciento encontrado por Kumar y cols. (2012). La resistencia de los aislamientos de *Campylobacter* de los perros domésticos encontrada en este estudio resulta pequeña al compararla con los aislamientos de granjas y carne de pollo, donde alcanzó el 100 por cien. La razón radicaría en la mayor frecuencia de uso de antibióticos en la industria avícola (Nelson y cols., 2007).

En cuanto a la tetraciclina, al igual que ocurre con la ciprofloxacina, los aislamientos de *Campylobacter* de los perros domésticos mostraron una resistencia menor (30,8%) que la encontrada para los aislamientos de granjas y carne de pollo (superior al 90%). Estos resultados son similares a los encontrados por otros autores (Lee y cols., 2004; Krutkiewicz y cols., 2009; Andrzejewska y cols., 2013), probablemente por la misma razón que se argumentó para el antibiótico anterior. En contraste, Tsai y cols. (2007) y Kumar y cols. (2012) hallaron en perros un porcentaje de resistencia notablemente superior (78,8% y 88,2%, respectivamente).

Al comparar la resistencia según la especie (*C. jejuni* o *C. upsaliensis*), observamos que existían diferencias significativas para la cefalotina ($p<0,001$), ciprofloxacina ($p<0,001$), ácido nalidíxico($p<0,002$) y tetraciclina ($p<0,001$), destacando el hecho de que en todos los casos *C. jejuni* presentó una resistencia superior. Este resultado podría estar relacionado con el mayor rango de hospedadores que posee *C. jejuni*, que incluye especies domésticas expuestas

de forma frecuente a distintos antibióticos como el pollo o el cerdo, en comparación con *C. upsaliensis*, que se encuentra principalmente en perros. En este sentido, en Dinamarca se ha observado un marcado descenso en el número de aislamientos de *C. jejuni* resistentes a las quinolonas tras haber prohibido el uso de este antibiótico (Skjot-Rasmussen y cols., 2009).

Si bien no se han encontrado otros autores que comparen la antibiorresistencia entre estas especies de *Campylobacter* en perros, estudios en personas señalan una mayor resistencia frente a la ciprofloxacina en *C. jejuni* (42,4%-88%) (Lehtopolku y cols., 2010; Ghosh y cols., 2013; González-Abad y Alonso-Sanz, 2013) respecto a *C. upsaliensis* (en torno al 5%) (Jenkin y Tee, 1998; Vandenberg y cols., 2006). En contraste, estudios igualmente realizados en personas muestran porcentajes de resistencia similares entre *C. jejuni* (4,5%-22,2%) (Lehtopolku y cols., 2010; Ghosh y cols., 2013; Gonzalez-Abad y Alonso-Sanz, 2013) y *C. upsaliensis* (10%-15%) (Patton y cols., 1989; Goossens y cols., 1990; Vandenberg y cols., 2006).

Finalmente, en relación a la presentación de multirresistencia, definida para esta parte del estudio como aquellos aislamientos que mostraron resistencia frente a cuatro o más antibióticos, se encontraron 32 (82,1%) y 14 (28%) aislamientos de *C. jejuni* y *C. upsaliensis* que presentaron esta condición, respectivamente. Cabe destacar el porcentaje notablemente superior de aislamientos de *C. jejuni* multirresistentes, así como que fuese la única especie que presentó resistencia frente a siete, ocho e incluso los nueve antibióticos utilizados. Este hecho está relacionado con la mayor sensibilidad de *C. upsaliensis* descrita en el párrafo anterior.

El porcentaje de aislamientos multirresistentes de *Campylobacter* (sin diferenciar entre especies) procedentes de perros domésticos (51,7%) y de carne de pollo (60%) fue similar. Si bien en principio sorprende hallar un mayor porcentaje de multirresistencia en perros que en carne de pollo para *C. jejuni*, máxime considerando que, en general, los aislamientos procedentes de este origen han mostrado mayor resistencia, creemos que la razón se justifica por el hecho de haber empleado para los perros un número mayor de antimicrobianos y porque algunos de los empleados, como la ampicilina o el sulfametoxazol con trimetoprim, no son antibióticos de elección frente a especies del género *Campylobacter*.

CONCLUSIONS/CONCLUSIONES

1st. The 62.9 per cent of the flocks from broiler farms in Andalusia showed infection with species in the genus *Campylobacter* during the period 2010-2012, being *C. jejuni* the most frequently isolated species, followed by *C. coli*. This result highlights the wide diffusion of *Campylobacter* infection in broiler farms from Andalusia.

2nd. It was not possible to isolate *Campylobacter* species from broilers younger than 14 days, suggesting that the horizontal transmission is responsible of the infection for these animals in the farm. Moreover, it was observed that the prevalence of infection increased with the age of the broilers along the production cycle. Although it was not possible to isolate *Campylobacter* before the broilers became infected, *Campylobacter* species were frequently found in several fomites such as litter, feeders and drinkers, when the animals were already infected. Consequently these fomites may act as sources of infection contributing to the horizontal transmission.

3rd. The following risk factors associated with the infection with species in the genus *Campylobacter* in broiler farms were identified: the age of the broilers (more than 30 days), the thinning, the presence of windows with canvas blinds in the house, the use of nebulizers for air conditioning, the existence of less than five lines of drinkers in the house, and the presence of dogs/cats in the farm. According to the above risk factors the following actions could be adopted in order to reduce the *Campylobacter* infection in broiler farms: to intensify biosecurity measures in farms where thinning is carried out routinely, to unfold and to clean deeply the blinds, to be alert with the humidity inside the house when the air was conditioned by nebulizers, to supply enough drinker lines, and to limit presence and movement of pets inside the broiler farms. Control of these factors will allow reducing the contamination of chicken meat and the risk of *Campylobacter* infection for humans.

4th. The contamination with species in the genus *Campylobacter* changed along the processing at the slaughterhouse and the quartering room, increasing or reducing depending on the area considered. The evisceration process was shown as the main critical point, probably due to the high frequency of cross-contamination.

5th. Although *C. jejuni* was the most frequently isolated species in the initial area at the slaughterhouse, the relative prevalence of *C. coli* almost doubled the relative prevalence of *C. jejuni* in the final product (chicken meat). It probably indicate a higher adherence or resistance of *C. coli* isolates along the processing at the slaughterhouse and quartering room.

6th. The frequency of contamination of the chicken meat with *Campylobacter* species at the end of processing was about 60 per cent, a lower percentage than the European average, which reach the 75.8 per cent.

7th. The prevalence of infection with species belonging to the genus *Campylobacter* in dogs from veterinary clinics in Cordoba during the period 2007-2008 was 35.2 per cent, being *C. upsaliensis* the most frequently isolated species, followed by *C. jejuni*. This result suggests that dogs may be an important source of infection for humans.

8th. The risk factors involved in the *Campylobacter* infection in domestic dogs were the age of the dog, the season and the presentation of enteric illness. It will be necessary to be especially careful with dogs from two to twelve months old, during the spring season and when dogs suffer an enteric disorder.

9th. The isolates from broilers, chicken meat and dogs showed the highest percentage of resistance to fluoroquinolones and tetracycline (up to 100%), suggesting a limited effectiveness of these antimicrobials for the treatment of campylobacteriosis in people in the study area. In contrast, *Campylobacter* isolates showed the lower resistance to gentamicin (less than 17%). This result must be taken into consideration to recommend this antibiotic as the drug of choice for treatment of campylobacteriosis. The high percentage of resistant and multi-drug resistant isolates suggests its excessive use in the veterinary activity. The needed of monitoring and regulation strategies of these drugs to avoid detrimental implications for public health is underlined.

1ª. El 62,9 por ciento de los lotes de granjas de broilers en Andalucía presentaron infección con especies del género *Campylobacter* durante el período 2010-2012, siendo *C. jejuni* la especie aislada con mayor frecuencia, seguida por *C. coli*. Este resultado pone de manifiesto la elevada difusión de la infección con *Campylobacter* en granjas de broilers de Andalucía.

2ª. No resultó posible el aislamiento de especies del género *Campylobacter* en broilers menores de 14 días, sugiriendo que la transmisión horizontal es la responsable de la infección de estos animales en la granja. Asimismo, se observó que la prevalencia de infección se incrementó con la edad de los broilers a lo largo del ciclo productivo. Aunque en las distintas instalaciones de la nave no fue posible aislar *Campylobacter* antes de que el lote se detectara como positivo, sí se encontraron distintas especies de *Campylobacter* con relativa frecuencia en diversos fómites, como yacija, pienso del comedero y agua del bebedero, una vez que los animales estaban infectados, pudiendo en consecuencia actuar como fuentes de infección que contribuirían a la transmisión horizontal.

3ª. Se han identificado los siguientes factores de riesgo asociados a la infección con especies del género *Campylobacter* en granjas de broilers: la edad de los animales (mayores de 30 días), la práctica de la despoblación parcial de forma regular, la presencia de ventanas con persianas de lona en la nave donde se crían los broilers, el uso de nebulizadores para la refrigeración de la nave, la existencia de menos de cinco líneas de bebederos en la nave y la presencia de perros/gatos en la granja. A partir de los factores mencionados derivan las siguientes medidas que podrían establecerse con objeto de reducir la infección en granjas de broilers: intensificar las medidas de bioseguridad en las granjas donde se realice la despoblación parcial de forma rutinaria, desplegar y limpiar con profundidad las persianas de lona, ser cauteloso con la refrigeración mediante nebulizadores, equipar la nave con suficientes líneas de bebederos, y limitar la presencia y el movimiento de animales de compañía (perros/gatos) dentro de las granjas de broilers. El control de estos factores permitiría disminuir el nivel de contaminación de la carne de pollo, así como el riesgo de infección con *Campylobacter* del consumidor.

4ª. La contaminación con especies del género *Campylobacter* varió durante el procesado en el matadero y la sala de despiece, incrementándose o reduciéndose en virtud de la zona considerada. En este sentido, el proceso de evisceración se reveló como el principal punto crítico, debido presumiblemente a la elevada frecuencia de contaminaciones cruzadas.

5ª. Si bien *C. jejuni* resultó la especie aislada con mayor frecuencia en la zona inicial del matadero, la prevalencia relativa de *C. coli* prácticamente duplicó la de *C. jejuni* en el producto final (carne de pollo), indicando posiblemente una mayor adherencia o resistencia de los aislamientos de *C. coli* durante el procesado en el matadero y sala de despiece.

6ª. La frecuencia de contaminación de la carne de pollo con especies del género *Campylobacter* al final del procesado se situó en el 60 por ciento, cifra sensiblemente inferior a la media europea, que asciende a un 75,8 por ciento.

7ª. La prevalencia de infección con especies del género *Campylobacter* en perros de clínicas veterinarias en Córdoba durante el periodo 2007-2008 fue de 35,2 por ciento, siendo *C. upsaliensis* la especie aislada con mayor frecuencia, seguida de *C. jejuni*. Este resultado sugiere que los perros podrían suponer una importante fuente de infección para las personas.

8ª. Los factores de riesgo implicados en la infección con *Campylobacter* en perros domésticos han sido la edad del perro, la estación del año y la presentación de enfermedad entérica, debiéndose extremar las precauciones al contactar con perros entre dos y doce meses, en la época de primavera o cuando estén afectados por un proceso entérico.

9ª. Hasta el cien por cien de los aislamientos de broilers, carne de pollo y perros analizados en este estudio mostraron resistencia frente a fluoroquinolonas y tetraciclina, lo que sugeriría una escasa efectividad de estos antimicrobianos para el tratamiento de la campilobacteriosis en personas en la zona de estudio. En contraste, la gentamicina se ha revelado como el antibiótico frente al que las especies de este género presentaron una menor resistencia (menos del 17%), debiendo tenerse en consideración como antibiótico de elección para el tratamiento de la campilobacteriosis. El elevado porcentaje de aislamientos resistentes y multirresistentes frente a los antimicrobianos sugiere su excesiva utilización en el ámbito veterinario, precisándose el establecimiento de estrategias de vigilancia y regulación de estos fármacos con el fin de evitar implicaciones perjudiciales para la salud pública.

ABSTRACT/RESUMEN

Campylobacteriosis is an infectious disease caused by bacteria in the genus *Campylobacter*. It is nowadays the most important zoonoses in the world. In contrast, this infection is considered to be asymptomatic in animals. *Campylobacter* species are generally commensal in the digestive tract of domestic and wild animals.

A microbiological and epidemiological study on *Campylobacter* infection has been carried out in dogs in Cordoba during 2007 and 2008 and in broilers from Andalusia from 2010 to 2012. The aims of the study were to determine the prevalence of *Campylobacter* infection in broilers flocks as well as to identify the risk factors associated with this infection and the potential sources of infection at farm level; to detect the critical control points during the processing and the level of contamination of chicken meat in the slaughterhouse; and to determine the prevalence and the species involved in the infection of dogs as well as to identify the risk factors. Furthermore, because of its impact on public health, the resistance profile of isolates of *Campylobacter* from broilers, chicken meat and domestic dogs to several antimicrobials has been determined.

Seven hundred and forty seven environmental samples and 2,221 cloacal samples were collected in broiler farms, 1,298 samples in slaughterhouse (from cloacae, carcasses and equipment) and 306 rectal samples were collected from dogs in clinics. Selective culture media for *Campylobacter* were used, confirming the morphologically and biochemically compatible colonies by PCR. The antimicrobial susceptibility was performed using the agar plate dilution method for the isolates from broilers and chicken meat, and the disk agar diffusion method for the isolates from dogs. For the epidemiological study in broiler farms and veterinary clinics, epidemiological questionnaires were designed including the risk factors potentially associated with *Campylobacter* infection.

Regarding the study in *farms*, the prevalence of infection by broiler flocks in Andalusia was 62.9 per cent (183/291), being infected the 31.7 percent (58/291) of the flocks exclusively with *C. jejuni* and the six per cent (11/291) with *C. coli*. Risk factors which have been associated with *Campylobacter* infection in the broiler farms from Andalusia were: age of the broilers (more than 30 days), the thinning, the presence of windows with canvas blinds in the house, the use

of nebulizers for air conditioning, the existence of less than five lines of drinkers in the house and the presence of dogs/cats in the farm. Regarding environmental samples, the highest percentage of species in the genus *Campylobacter* were isolated in poultry litter (25.8%; 46/178). *C. jejuni* was the most frequently isolated species in environmental sources, followed by *C. coli* in the same way that cloacal samples.

In relation to the study at *slaughterhouse* level, the highest frequency of *Campylobacter* contamination in carcasses (79.1%; 53/67) and facilities (equipment, utensils) (81.4%; 70/86) was observed in the evisceration area. In chicken meat ready to be distributed and commercialized, the frequency of contamination was 62.7 percent (52/83). In relation to the isolated species, although *C. jejuni* was the most common species in the initial zone of the slaughterhouse as occurs in the farm study, the relative prevalence of *C. coli* (64.6%) was almost twice that *C. jejuni* (35.4%) in the final product (chicken meat).

The study in *domestic dogs* showed a prevalence of infection with *Campylobacter* of 35.2 per cent (102/290). The species most frequently isolated was *C. upsaliensis* (58.8%), followed by *C. jejuni* (39.2%). Regarding the risk factors associated with infection in dogs, the age (between 2-12 months) and the presentation of enteric illness were showed as risk factors for infection with *C. upsaliensis*. In contrast, the season (spring) and the presentation of enteric illness were associated with the infection with *C. jejuni*.

In relation to the *antimicrobial susceptibility*, fluoroquinolones and tetracycline showed the highest percentage of resistance (up to 100%). *Campylobacter* isolates showed the lower resistance to gentamicin (less than 17% in broilers, chicken meat and dogs). The 60 per cent of *Campylobacter* isolates from chicken meat and the 51.7 percent of isolates from dogs showed multi-drug resistance. *C. coli* showed a higher resistance than *C. jejuni* in isolates from chicken meat, while *C. jejuni* showed a higher resistance than *C. upsaliensis* isolates in dogs.

This is the first study carried out in Spain about sources of infection and risk factors associated with *Campylobacter* infection in broiler farms and veterinary clinics of pets. According to these results it is suggested that the control of the risk factors would decrease the prevalence of *Campylobacter* in broiler flocks in Andalusia and, therefore, the contamination of chicken carcasses, as well as the risk of infection with *Campylobacter* of the human consumers. Environment inside the house could be a source of infection for broilers, although positive environmental samples were only found when broilers were already infected.

Regarding the processing in slaughterhouse the evisceration area was showed as the main critical control point. In consequence, the main measures to fight against cross contamination

at slaughterhouse should be focussed in this area. In addition, it is suggested a greater adhesion or resistance of the isolates of *C. coli* along the processing.

Domestic dog was considered a major source of *Campylobacter* infection for humans and its importance should be not underestimated. It will be necessary to be especially careful with dogs younger than a year, during the spring season and when dogs suffer an enteric disorder. Moreover, antimicrobial susceptibility results show the need of control the emergent antibiotic resistance.

La campilobacteriosis es una enfermedad infecciosa producida por bacterias del género *Campylobacter*, que supone en la actualidad la zoonosis más importante a nivel mundial. En contraste, en los animales, *Campylobacter* puede estar presente como comensal en el tracto digestivo sin causar enfermedad clínica.

Se ha realizado un estudio microbiológico y epidemiológico de la infección de las distintas especies del género *Campylobacter* en broilers de Andalucía desde el año 2010 hasta el 2012, tanto a nivel de granja como de matadero con objeto de determinar la prevalencia de infección, los factores de riesgo asociados con esta bacteria y las posibles fuentes de infección; así como los puntos de control crítico durante el procesado de las canales y el nivel de contaminación de la carne de pollo que llegará hasta el consumidor. Además, este trabajo incorpora el estudio microbiológico y epidemiológico de las especies de *Campylobacter* en perros domésticos de Córdoba desde el año 2007 hasta el 2008, determinándose en esta especie animal la prevalencia de infección con *Campylobacter* y las distintas especies, así como los factores de riesgo asociados con este organismo. Por otra parte, debido a su repercusión en salud pública, se ha determinado el perfil de resistencia de aislamientos de *Campylobacter* procedentes de broilers, carne de pollo y perros domésticos frente a diversos antimicrobianos.

El estudio microbiológico se realizó a partir de las 2.221 muestras cloacales y las 747 muestras ambientales tomadas en granjas de broilers, las 1.298 muestras tomadas en matadero (cloaca, canales e instalaciones) y las 306 muestras rectales procedentes de perros de clínicas veterinarias. Se utilizaron medios de aislamiento selectivos para *Campylobacter*, confirmándose las colonias morfológica y bioquímicamente compatibles mediante PCR. El análisis de la sensibilidad antimicrobiana se realizó utilizándose el método de difusión en placa de agar para los aislamientos de broilers y carne de pollo, y el de difusión de disco en agar para los de perros. Para el estudio epidemiológico de las granjas de broilers y los perros de clínicas veterinarias se diseñaron encuestas epidemiológicas incluyendo los factores de riesgo potencialmente asociados a la infección.

En referencia al *estudio en granjas*, la prevalencia de infección por lotes de broilers de Andalucía fue del 62,9 por ciento (183/291), estando el 31,7 por ciento (58/291) de los lotes

infectados exclusivamente con *C. jejuni* y el seis por ciento (11/291) con *C. coli*. Los factores de riesgo que se han asociado con la infección con *Campylobacter* en los broilers de las granjas de Andalucía han sido: la edad de los animales (mayores de 30 días), la práctica de la despoblación parcial de forma regular, la presencia de ventanas con persianas de lona en la nave donde se crían los broilers, el uso de nebulizadores para la refrigeración de la nave, la existencia de menos de cinco líneas de bebederos en la nave y la presencia de perros/gatos en la granja. En cuanto a las muestras ambientales, se aislaron especies del género *Campylobacter* sobre todo en yacija (25,8%; 46/178). Al igual que en los broilers, la especie que se aisló más frecuentemente fue *C. jejuni*, seguida de *C. coli*.

Respecto al estudio en matadero, la mayor frecuencia de contaminación con *Campylobacter*, tanto en las canales (79,1%; 53/67) como en las instalaciones (maquinaria, utensilios) (81,4%; 70/86), se presentó en la zona de evisceración. En la carne de pollo preparada para ser distribuida y comercializada, la frecuencia de contaminación fue de 62,7 por ciento (52/83). En relación a las especies aisladas, aunque *C. jejuni* fue la especie más frecuente en la zona inicial del matadero como sucediese en el estudio en granjas, la prevalencia relativa de *C. coli* (64,6%) fue casi dos veces la de *C. jejuni* (35,4%) en el producto final (carne de pollo).

El estudio en perros domésticos indicó una prevalencia de infección con *Campylobacter* del 35,2 por ciento (102/290). La especie aislada con mayor frecuencia fue *C. upsaliensis* (58,8%), seguida de *C. jejuni* (39,2%). En lo referente a los factores de riesgo asociados con la infección en esta especie animal, la edad del perro entre 2-12 meses y la presentación de enfermedad entérica supusieron factores de riesgo para la infección con *C. upsaliensis*, en contraste, la estación de primavera y la presentación de enfermedad entérica lo fueron para la infección con *C. jejuni*.

En cuanto al estudio de sensibilidad antimicrobiana, se observó un elevado porcentaje de aislamientos resistentes frente a las fluoroquinolonas y la tetraciclina (hasta el 100%). La gentamicina fue el antibiótico frente al que *Campylobacter* presentó menor resistencia (menos del 17%). El 60 por ciento de los aislamientos de carne de pollo y el 5,7 por ciento de los de perros mostraron multiresistencia. En este sentido, los aislamientos de *C. coli* de carne de pollo presentaron mayor resistencia que los de *C. jejuni*, mientras que en aislamientos de perros, *C. jejuni* mostró mayor resistencia que *C. upsaliensis*.

Este es el primer estudio realizado en España sobre las fuentes de infección y factores de riesgo asociados con *Campylobacter* en los lotes de broilers en granja y en clínicas de animales de compañía. Conforme a estos resultados se sugiere que el control de estos factores disminuiría la prevalencia de *Campylobacter* en los lotes de broilers de Andalucía y, como

consecuencia, la contaminación de las canales de pollo, así como la incidencia de campilobacteriosis en personas. Así, aunque las muestras ambientales positivas solo se encontraron una vez que los broilers estaban infectados con *Campylobacter*, podrían suponer una fuente de infección para estos animales.

En cuanto al procesado de las canales, la zona de evisceración del matadero supondría un punto de control crítico, debiendo focalizarse aquí las principales medidas para combatir la contaminación cruzada. Además, se sugiere una mayor adherencia o resistencia de los aislamientos de *C. coli* a lo largo del procesado.

Del mismo modo, los perros domésticos pueden considerarse una fuente de infección para los humanos que no se debe subestimar. Acorde a los resultados de los factores de riesgo, se tendrá que tener especial precaución al estar en contacto con perros menores de un año, en la época de primavera y con procesos entéricos.

Asimismo, los resultados del análisis de sensibilidad antimicrobiana denota la importancia de controlar la resistencia antibiótica emergente.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi agradecimiento a Alfonso Carbonero, mi director de la tesis desde el primer momento. Uno de los mayores responsables de este trabajo, gracias a su constancia, compromiso y esfuerzo. Además, no puedo dejar de agradecerle lo que con el tiempo se ha convertido en una amistad, gracias a su empatía conmigo, su saber escuchar y su nobleza. Gracias por los momentos que durante estos años hemos compartido, que aunque mejores y peores, todos van a quedar en mí con un gran cariño. Son pocas las palabras para plasmar todo lo que me gustaría expresar después de tantas vivencias.

Agradecer a mi directora Carmen Borge por su implicación en este trabajo, su preocupación y su apoyo constante. Gracias por estar dispuesta siempre a ayudarme, por tus sensatos consejos y tranquilizarme con tus palabras siempre que lo he necesitado.

Mención especial a Anselmo, sin él esta tesis no hubiese sido posible. Gracias por confiar en mí, por contar conmigo, por hacerme sentir siempre su cariño y su apoyo. Gracias porque, aunque no conste como director de mi tesis, ha actuado como tal desde el principio y porque parte de lo que soy hoy es indudablemente gracias a él.

Gracias a Antonio Arenas, Nacho, Antoñito y Jorge porque durante este tiempo siempre han tenido un gesto amable y afectivo, teniendo una palabra de aliento en el momento adecuado. Gracias a José Carlos, Guillermo, Estefanía y José, simplemente por estar ahí, animándome a continuar. Gracias a Alfonso Lara, imprescindible para el trabajo de laboratorio, y la persona que cada día ha pintado la sonrisa en mi cara, compartiendo momentos imborrables.

Gracias a Miguel Ángel, Encarni, Gregorio, Mercedes, José Miguel, José Antonio, Alberto Picchi, así como a todos los veterinarios que han participado en este estudio. Gracias también a los granjeros que me han permitido realizar parte del estudio en sus granjas.

Gracias a Sam Sheppard, por acogerme en la Universidad de Swansea, siendo posible realizar mi estancia allí. Agradecer también a mis compañeros de esa universidad, sobre todo a Guillaume, Steve y Ben, por preocuparse por mí, haciéndome sentir como en casa en un lugar nuevo. Además, gracias a Rebecca, la primera persona que conocí en Swansea, la que me ofreció todo sin conocerme de nada.

Gracias a mi padre, por su amor incomparable, por darme el mejor ejemplo creciendo a su lado, enseñándome a no rendirme, a conseguir los objetivos en la vida mediante el trabajo y el sacrificio. A mi madre, por su ternura cada día y su optimismo, por transmitirme paz y regalarme siempre una sonrisa, por enseñarme valores como la honestidad y la honradez.

Gracias a mi familia, mi hermano, mis primos y mis tíos, por su preocupación por mí. A mis abuelas, por ser el mejor ejemplo de mujeres trabajadoras y luchadoras, sabiéndomelo transmitir a lo largo de mi vida; abuela María allá donde estés gracias.

Gracias a mi '*dezaztre*' por soportarme cada día, por ser la persona que más ha aguantado mi mal genio y mal humor en momentos de estrés, por recordarme que soy capaz, por estar incondicionalmente ahí, escuchándome, apoyándome y queriéndome siempre.

Gracias a mis niñas Ari, Isa Plata, Elena y Vero por compartir juntas nuestros logros y derrotas, por confiar en mí, simplemente por ser las mejores amigas que puedo tener.

Gracias a mis amigas, Gema, Isa Reyes, Mónica, Cristina, Carmen, Maite; y amigos, Luis, Jacinto, 'señor Valdecantos', Blanco, Juan, Madrid, Manolo, Miranda y 'Pacos', que me han mostrado, cada uno a su manera, su apoyo, su energía y su cariño, como la gran familia que llevamos siendo hace años.

Gracias a todos los que de una forma u otra han hecho posible realizar este trabajo.

REFERENCIAS

- Aabenhus, R., On, S.L.W., Siemer, B.L., Permin, H., Andersen, L.P., 2005. Delineation of *Campylobacter concisus* genomospecies by amplified fragment length polymorphism analysis and correlation of results with clinical data. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 5091-5096.
- Aarestrup, F.M., Engberg, J., 2001. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. *Veterinary Research* 32, 311-321.
- Abubakar, I., Irvine, L., Aldus, C.F., Wyatt, G.M., Fordham, R., Schelenz, S., Shepstone, L., Howe, A., Peck, M., Hunter, P.R., 2007. A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food. *Health Technology Assessment* 11 (36).
- Abuoun, M., Manning, G., Cawthraw, S.A., Ridley, A., Ahmed, I.H., Wassenaar, T.M., Newell, D.G., 2005. Cytolethal distending toxin (CDT)-negative *Campylobacter jejuni* strains and anti-CDT neutralizing antibodies are induced during human infection but not during colonization in chickens. *Infection and Immunity* 73, 3053-3062.
- Achen, M., Morishita, T.Y., Ley, E.C., 1998. Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* in broilers from day-of-hatch to slaughter age. *Avian Diseases* 42, 732-737.
- Acheson, D., Allos, B.M., 2001. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases* 32, 1201-1206.
- Acke, E., Whyte, P., Jones, B.R., McGill, K., Collins, J.D., Fanning, S., 2006. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in two animal shelters in Ireland. *Veterinary Record* 158, 51-54.
- Acke, E., McGill, K., Quinn, T., Jones, B.R., Fanning, S., Whyte, P., 2009a. Antimicrobial resistance profiles and mechanisms of resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from pets. *Foodborne Pathogens and Disease* 6, 705-710.
- Acke, E., McGill, K., Golden, O., Jones, B.R., Fanning, S., Whyte, P., 2009b. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. *Veterinary Record* 164, 44-47.
- Adak, G.K., Cowden, J.M., Nicholas, S., Evans, H.S., 1995. The Public Health Laboratory Service national case-control study of primary indigenous sporadic cases of *Campylobacter* infection. *Epidemiology and Infection* 115, 15-22.
- Adkin, A., Hartnett, E., Jordan, L., Newell, D., Davison, H., 2006. Use of a systematic review to assist the development of *Campylobacter* control strategies in broilers. *Journal of Applied Microbiology* 100, 306-315.
- Adzitey, F., Rusul, G., Huda, N., Cogan, T., Corry, J., 2012. Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of *Campylobacter* species isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. *International Journal of Food Microbiology* 154, 197-205.
- Aho, P., 2012. Worldwide chicken, pork consumption forecast to continue increasing. *WATT Poultry USA* 13 (12), 12-13.

- Alary, M., Nadeau, D., 1990. An outbreak of *Campylobacter* enteritis A associated with a community water supply. Canadian Journal of Public Health 81, 268-271.
- Alfredson, D.A., Akhurst, R.J., Korolik, V., 2003. Antimicrobial resistance and genomic screening of clinical isolates of thermophilic *Campylobacter* spp. from south-east Queensland, Australia. Journal of Applied Microbiology 94, 495-500.
- Allen, K. J., Griffiths, M.V., 2001. Use of luminescent *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 to assess eggshell colonization and penetration in fresh and retail eggs. Journal of Food Protection 64, 2058-2062.
- Allen, V.M., Bull, S.A., Corry, J.E., Domingue, G., Jorgensen, F., Frost, J.A., Whyte, R., Gonzalez, A., Elviss, N., Humphrey, T.J., 2007. *Campylobacter* spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonisation. International Journal of Food Microbiology 113, 54-61.
- Allen, V.M., Burton, C.H., Wilkinson, D.J., Whyte, R.T., Harris, J.A., Howell, M., Tinker, D.B., 2008a. Evaluation of the performance of different cleaning treatments in reducing microbial contamination of poultry transport crates. British Poultry Science 49, 233-240.
- Allen, V.M., Weaver, H., Ridley, A.M., Harris, J.A., Sharma, M., Emery, J., Sparks, N., Lewis, M., Edge, S., 2008b. Sources and spread of thermophilic *Campylobacter* spp. during partial depopulation of broiler chicken flocks. Journal of Food Protection 71, 264-270.
- Allos, B.M. 2001. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clinical Infectious Diseases 32, 1201-1206.
- Allos, B.M., Blaser, M.J., 1995. *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. Clinical Infectious Diseases 20: 1092-1099.
- Alonso, J.L., Alonso, M.A., 1993. Presence of *Campylobacter* in marine waters of Valencia, Spain. Water Research 27 (10), 1559-1562.
- Alter, T., Gaull, F., Froeb, A., Fehlhaber, K., 2005. Distribution of *Campylobacter jejuni* strains at different stages of a turkey slaughter line. Food Microbiology 22, 345-351
- Alter, T., Scherer, K., 2006. Stress response of *Campylobacter* spp. and its role in food processing. Journal of Veterinary Medicine 53, 351-357.
- Amer, M.M., Zohair, G.A., EL-Bayomi, Kh,M., Amin Girh, Z.M.S., 2012. Effect of tilmicosin in control of mycoplasmosis in broiler chickens from infected breeders using Elisa test for evaluation. Journal of American Science 8, 696-700.
- Amri, A.A., Senok, A.C., Ismaeel, A.Y., Al-Mahmeed, A.E., Botta, G.A., 2007. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. Journal of Medical Microbiology 56, 1350-1355.
- Andersen-Nissen, E., Smith, K.D., Strobe, K.L., Barrett, S.L.R., Cookson, B.T., Logan, S.M., Aderem, A., 2005. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences 102, 9247-9252.
- Andrzejewska, M., Szczepańska, B., Klawe, J.J., Śpica, D., Chudzińska, M., 2013. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* species in cats and dogs from Bydgoszcz (Poland) region. Polish Journal of Veterinary Sciences 16, 115-120.
- ANFAAC, 2009. Asociación Nacional de los Fabricantes de Alimentos para Animales de Compañía: <http://www.anfaac.org/>
- Angelovski, L., Sekulovski, P., Jankuloski, D., Ratkova, M., Prodanov, M., Kostova, S., 2011. Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from broiler flocks. Macedonian Veterinary Review 34, 15-18.
- Anónimo, 1995. International Food Safety News, Vol. 4, No. 3, ISSN 0960 9784 Research Information Ltd, 4-5.

- 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. *International Journal of Food Microbiology* 144, 475-479.
- Aquino, M.H.C., Filgueiras, A.L.L., Ferreira, M.C.S., Oliveria, S.S., Bastos, M.C., Tibana, A., 2002. Antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human and animal sources. *Letters in Applied Microbiology* 34, 149-153
- Arsenault, J., Letellier, A., Quessy, S., Normand, V., Boulianne, M., 2007a. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Preventive Veterinary Medicine* 81, 250-264.
- Arsenault, J., Letellier, A., Quessy, S., Boulianne, M., 2007b. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. *Journal of Food Protection* 70, 1820-1828.
- Asakura, M., Samosornsuk, W., Taguchi, M., Kobayashi, K., Misawa, N., Kusumoto, M., Nishimura, K., Matsuhisa, A., Yamasaki, S., 2007. Comparative analysis of cytolethal distending toxin (*cdt*) genes among *Campylobacter jejuni*, *C. coli* and *C. fetus* strains. *Microbial Pathogenesis* 42, 174-183.
- Asakura, M., Samosornsuk, W., Hinenoya, A., Misawa, N., Nishimura, K., Matsuhisa, A., Yamasaki, S., 2008. Development of a cytolethal distending toxin (*cdt*) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 52, 260-266.
- Avrain, L., Humbert, F., L'Hospitalier, R., Sanders, P., Vernozy-Rozand, C., Kempf, I., 2003a. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Veterinary Microbiology* 96, 267-276.
- Avrain, L., Allain, L., Vernozy-Rozand, C., Kempf, I., 2003b. Disinfectant susceptibility testing of avian and swine *Campylobacter* isolates by a filtration method. *Veterinary Microbiology* 96, 35-40.
- Avrain, L., Humbert, F., Sanders, P., Vernozy-Rozand, C., Kempf, I., 2004. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from pigs in French slaughterhouses. *Revue de Medecine Vétérinaire* 155, 156-158.
- Axelsson-Olsson, D., Waldenström, J., Broman, T., Olsen, B., Holmberg, M., 2005. Protozoan *Acanthamoeba polyphaga* as a Potential Reservoir for *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 987-992.
- Babakhani, F.K., Bradley, G.A., Joens, L.A., 1993. Newborn piglet model for campylobacteriosis. *Infection and Immunity* 61, 3466-3475.
- Bacon, D.J., Alm, R.A., Burr, D.H., Hu, L., Kopecko, D.J., Ewing, C.P., Trust, T.J., Guerry, P., 2000. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infection and Immunity* 68, 4384-4390.
- Bacon, D.J., Szymanski, C.M., Burr, D.H., Silver, R.P., Alm, R.A., Guerry, P., 2001. A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Molecular Microbiology* 40, 769-777.
- Baggerman, W.I., Koster, T., 1992. A comparison of enrichment and membrane filtration methods for the isolation of *Campylobacter* from fresh and frozen foods. *Food Microbiology* 9, 87-94.
- Bailey, G.D., Vanselow, B.A., Hornitzky, M.A., Hum, S.I., Eamens, G.J., Gill, P.A., Walker, K.H., Cronin, J.P., 2003. A study of the foodborne pathogens: *Campylobacter*, *Listeria* and *Yersinia*, in faeces from slaughter-age cattle and sheep in Australia. *Communicable Diseases Intelligence* 27, 249-257.
- Baker, J., Barton, M.D., Lanser, J., 1999. *Campylobacter* species in cats and dogs in South Australia. *Australian Veterinary Journal* 77, 662-666.
- Baqar, S., Applebee, L.A., Bourgeois, A.L., 1995. Immunogenicity and protective efficacy of a prototype *Campylobacter* killed whole-cell vaccine in mice. *Infection and Immunity* 63, 3731-3735.

- Baqar, S., Rice, B., Lee, L., Bourgeois, A.L., El Din, A.N., Tribble, D.R., Heresi, G.P., Mourad, A.S., Murphy, J.R., 2001. *Campylobacter jejuni* enteritis. *Clinical Infectious Diseases* 33, 901-905.
- Baqar, S., Applebee, L.A., Guilliland, T.C.J., Lee, L.H., Porter, C.K., Guerry, P., 2008. Immunogenicity and protective efficacy of recombinant *Campylobacter jejuni* flagellum-secreted proteins in mice. *Infection and Immunity* 76, 3170-3175.
- Baquero, F., 2010. La crisis actual. Resistencia a los antimicrobianos. I. d. S .C. I. (ISCI). Madrid.
- Bardon, J., Kolar, M., Cekanova, L., Hejnar, P., Koukalova, D., 2009. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and its resistance to antibiotics in poultry in the Czech Republic. *Zoonoses and Public Health* 56, 111-116.
- Barot, M.S., Mosemthal, A.C., Bokkenheuser, V.D., 1983. Location of *Campylobacter jejuni* in infected chicken livers. *Journal of Clinical Microbiology* 17, 921-922.
- Barrios, P.R., Reiersen, J., Lowman, R., Bisailon, J., Michel, P., Fridriksdóttir, V., Gunnarsson, E., Stern, N., Berke, O., McEwen, S., Martin, W., 2006. Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in broiler flocks in Iceland. *Preventive Veterinary Medicine*. 74 264-278.
- Baserisalehi, M., Bahador, N., Kapadnis, B.P., 2007. Isolation and characterization of *Campylobacter* spp. from domestic animals and poultry in South of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10, 1519-1524.
- Bashor, M.P., Curtis, P.A., Keener, K.M., Sheldon, B.W., Kathariou, S. Osborne, J.A., 2004. Effects of carcass washers on *Campylobacter* contamination in large broiler processing plants. *Poultry Science* 83, 1232-1239.
- Batchelor, D.J., Tzannes, S., Graham, P.A., Wastling, J.A., Pinchbeck, G.L., German, A.J., 2008. Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. *Transboundary and Emerging Diseases* 55, 99-104.
- Bates, C., Hiett, K.L., Stern, N.J., 2004. Relationship of *Campylobacter* isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. *Avian Diseases* 48, 138-147
- Bauermeister, L.J., Bowers, J.W., Townsend, J.C., McKee, S.R., 2008. The microbial and quality properties of poultry carcasses treated with peracetic acid as an antimicrobial treatment. *Poultry Science* 87, 2390-2398.
- Baylis, C.L., MacPhee, S.A., Martin, K.W., Humphrey, T.J., Betts, R.P., 2000. Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods. *Journal of Applied Microbiology* 89, 884-891.
- Begon, M., Harper, J.L., Townsend, C.R., 1986. Ecology, individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Bell, J. A., Manning, D.D., 1990. A domestic ferret model of immunity to *Campylobacter jejuni*-induced enteric disease. *Infection and Immunity* 58, 1848-1852.
- Bereswill, S., Fischer, A., Plickert, R., Haag, L.M., Otto, B., Kühl, A.A., Dashti, J.I., Zautner, A.e., Muñoz, M., Loddenkemper, C., Groß, U., Göbel, U.B., Heimesaat, M.M., 2011. Novel murine infection models provide deep insights into the “ménage à trois” of *Campylobacter jejuni*, microbiota and host innate immunity. *PLoS One* 6 (6), e20953.
- Berndtson, E., Emanuelson, U., Engvall, A., Danielsson-Tham, M.L., 1996a. A 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. *Preventive Veterinary Medicine* 26, 167-185.
- Berndtson, E., Danielsson-Tham, M.L., Engvall, A., 1996b. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *International Journal of Food Microbiology* 32, 35-47.
- Bernsen, R.A.J.A.M., Aeiko, E.J., de Jager, P.I., Schmitz, M., Van Der Meché, F.G.A., 2002. Long-term impact on work and private life after Guillain–Barré syndrome. *Journal of the Neurological Sciences* 201, 13-17.
- Berrang, M.E., Smith, D.P., Meinersmann, R.J., 2011. Variations on standard broiler processing in an effort to reduce *Campylobacter* numbers on postpick carcasses. *Journal of Applied Poultry Research* 20, 197-202.

- Berry, A.P., Levett, P.N., 1986. Chronic diarrhoea in dogs associated with *Clostridium difficile* infection. *Veterinary Record* 118, 102-103.
- Bessell, P.R., Matthews, L., Smith-Palmer, A., Rotariu, O., Strachan, N.J.C., Forbes, K.J., Cowden, J.M., Stuart, W.J.R., Innocent, G.T., 2010. Geographic determinants of reported human *Campylobacter* infections in Scotland. *BMC Public Health* 10, 423.
- Bester, L.A., Essack, S.Y., 2008. Prevalence of antibiotic resistance in *Campylobacter* isolates from commercial poultry suppliers in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62, 1298-1300.
- Bhaduri, S., Cottrell, B., 2004. Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken skin during frozen storage. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 7103-7109.
- Bilgili, S.F., 2002. Slaughter quality as influenced by feed withdrawal. *Worlds Poultry Science Journal* 58, 123-130.
- Bilgili, S.F., Hess, J.B., 1997. Tensile strength of broiler intestines as influenced by age and feed withdrawal. *Journal of Applied Poultry Research* 6, 279-283.
- Black, R.E., Levine, M.M., Clements, M.L., Hughes, T.P., Blaser, M.J., 1988. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *The Journal of Infectious Diseases* 157, 472-479.
- Blaser, M.J., 1995. *Campylobacter* and related species. En G.L. Mandell, J.E. Bennett y R. Dolin (Eds). *Principles and practice of infectious Diseases*, 4th ed. (pp. 1948-1956). Churchill Livingstone, New York.
- Blaser, M.J., 1997. Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *Journal of Infectious Diseases* 176, S103-S105.
- Blaser, M.J., 2000. *Campylobacter jejuni* and related species. En G.L. Mandell, J.E. Bennett y R. Dolin (Eds.). *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, vol. 2, 5th ed. (pp. 2276-2285). Churchill Livingstone, Philadelphia, PA.
- Blaser, M.J., Waldman, R.J., Barrett, T., Erlandson, A.L., 1981. Outbreaks of *Campylobacter* enteritis in two extended families: evidence for person-to-person transmission. *Journal of Pediatrics* 98, 254-257.
- Bolder, N.M., 2007. Microbial challenges of poultry meat production. *Worlds Poultry Science Journal* 63, 401-411.
- Bolton, F.J., 2001. Methods for isolation of *Campylobacter* from humans, animals, food and water. The increasing incidence of campylobacteriosis in humans. Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Geneva: World Health Organization, 87-94.
- Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., Coates, D., 1984. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Journal of Clinical Microbiology* 19, 169-171.
- Boonmar, S., Sangsuk, L., Suthivarakom, K., Padungtod, P., Morita, Y., 2005. Serotypes and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from humans and animals in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 36, 130-134.
- Bourke, B., Chan, V.L., Sherman, P., 1998. *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings. *Clinical Microbiology Reviews* 11, 440-449.
- Bouwknegt, M., Van de Giessen, A.W., Dam-Deisz, W.D.C., Havelaar, A.H., Nagelkerke, N.J.D., Henken, A.M., 2004. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 62, 35-49.
- Boyd, Y., Herbert, E.G., Marston, K.L., Jones, M.A., Barrow, P.A., 2005. Host genes affect intestinal colonisation of newly hatched chickens by *Campylobacter jejuni*. *Immunogenetics* 57, 248-253.
- Boysen, L., Rosenquist, H., 2009. Reduction of thermotolerant *Campylobacter* species on broiler carcasses following physical decontamination at slaughter. *Journal of Food Protection* 72, 497-502.

- Brás, A.M., Ketley, J.M., 1999. Transcellular translocation of *Campylobacter jejuni* across human polarised epithelial monolayers. *FEMS Microbiology Letters* 179, 209-215.
- Brown, C., Martin, V., Chitwood, S., 1999. An outbreak of enterocolitis due to *Campylobacter* spp. in a beagle colony. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11, 374-376.
- Buhr, R.J., Cox, N.A., Stern, N.J., Musgrove, M.T., Wilson, J.L., Hiett, K.L., 2002. Recovery of *Campylobacter* from segments of the reproductive tract of broiler breeder hens. *Avian Diseases* 46, 919-924.
- Bull, S.A., Allen, V.M., Domingue, G., Jorgensen, F., Fros, J.A., Ure, R., Whyte, R., Tinker, D., Corry, J.E., Gillard-King, J., Humprey, T.J., 2006. Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broilers flocks during rearing. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 645-652.
- Bull, S.A., Thomas, A., Humphrey, T., Ellis-Iversen, J., Cook, A.J., Lovell, R., Jorgensen, F., 2008. Flock health indicator and *Campylobacter* spp. in commercial housed broilers reared in Great Britain. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 5408-5413.
- Bullman, S., Corcoran, D., O'Leary, J., Lucey, B., Byrne, D., Sleator, R.D., 2011. *Campylobacter ureolyticus*: an emerging gastrointestinal pathogen?. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 61, 228-230.
- Buogo, C., Burnens, A.P., Perrin, J., Nicolet, J., 1995. Presence of *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *C. perfringens* and salmonellae in litters of puppies and in adult dogs in a shelter. *Schweiz Arch Tierheilkd* 137, 165-171.
- Burch, D., 2005. Avian vibriotic hepatitis in laying hens. *Veterinary Record* 157, 528.
- Burnens, A.P., Angeloz-Wick, B., Nicolet, J., 1992. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Journal of Veterinary Medicine* 39, 175-180.
- Buswell, C.M., Herlihy, Y.M., Lawrence, L.M., McGiggan, J.T.M., Marsh, P.D., Keevil, C.W., Leach, S.A., 1998. Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and-rRNA staining. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 733-741.
- Butzler, J.P., 1974. *Campylobacter*, an unrecognised pathogen. PhD Thesis, Free University of Brussels, Belgium.
- Butzler JP, De Boeck M, Goossens H., 1983. New selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. *Lancet* i, 818.
- Butzler, J.P., 2004. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical Microbiology and Infection* 10, 868-876.
- Buzby, J.C., Roberts, T., Allos, B.M., 1997. Estimated annual costs of *Campylobacter*-associated Guillain-Barre syndrome. *Agricultural Economic Report* 756, 33.
- Byrd, J., Bailey, R.H., Wills, R., Nisbet, D., 2007. Recovery of *Campylobacter* from commercial broiler hatchery trayliners. *Poultry Science* 86, 26-29.
- Calderon-Gomez, L.I., Hartley, L.E., McCormack, A., Ringoir, D.D., Korolik, V., 2008. Potential use of characterised hyper-colonising strain(s) of *Campylobacter jejuni* to reduce circulation of environmental strains in commercial poultry. *Veterinary Microbiology* 134, 353-361.
- Callicott, K.A., Fridriksdottir, V., Reiersen, J., Lowman, R., Bisailon, J.R., Gunnarsson, E., Berndtson, E., Hiett, K.L., Needleman, D.S., Stern, N.J., 2006. Lack of evidence for vertical transmission of *Campylobacter* spp. in chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 5794-5798.
- Camarda, A., Newell, D.G., Nasti, R., Di Modugno, G., 2000. Genotyping *Campylobacter jejuni* strains isolated from the gut and oviduct of laying hens. *Avian Diseases* 44, 907-912.
- Caprioli, A., Busani, L., Martel, J.L., Helmuth, R., 2000. Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *International Journal of Antimicrobial Agents* 14, 295-301.

- Cardinale, E., Tall, F., Guèye, E.F., Cisse, M., Salvat, G., 2004. Risk factors for *Campylobacter spp.* infection in Senegalese broiler-chicken flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 64, 15-25.
- Carrillo, C.D., Taboada, E., Nash, J.H., Lanthier, P., Kelly, J., Lau, P.C., Verhulp, R., Mykytczuk, O., Sy, J., Findlay, W.A., Amoako, K., Gomis, S., Willson, P., Austin, J.W., Potter, A., Babiuk, L., Allan, B., Szymanski, C.M., 2004. Genome-wide expression analyses of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 reveals coordinate regulation of motility and virulence by flhA. *Journal of Biological Chemistry* 279, 20327-20338.
- Cawthraw, S., Ayling, R., Nuijten, P., Wassenaar, T., Newell, D. G, 1994. Isotype, specificity, and kinetics of systemic and mucosal antibodies to *Campylobacter jejuni* antigens, including flagellin, during experimental oral infections of chickens. *Avian Diseases* 38, 341-349.
- Cawthraw, S.A., Wassenaar, T.M., Ayling, R., Newell, D.G., 1996. Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. *Epidemiology and Infection* 117, 213-215.
- Cawthraw, S.A., Lind, L., Kaijser, B., Newell, D.G., 2000. Antibodies, directed towards *Campylobacter jejuni* antigens, in sera from poultry abattoir workers. *Clinical and Experimental Immunology* 122, 55-60.
- Cawthraw, S.A., Feldman, R.A., Sayers, A.R., Newell, D.G., 2002. Long-term antibody responses following human infection with *Campylobacter jejuni*. *Clinical and Experimental Immunology* 130, 101-106.
- Cawthraw, S.A., Newell, D.G., 2010. Investigation of the presence and protective effects of maternal antibodies against *Campylobacter jejuni* in chickens. *Avian Diseases* 54, 86-93.
- Chaban, B., Ngeleka, M., Hill, J.E., 2010. Detection and quantification of 14 *Campylobacter* species in pet dogs reveals an increase in species richness in feces of diarrheic animals. *BMC Microbiology* 10, 73.
- Chantarapanont, W., Berrang, M., Frank, J.F., 2003. Direct microscopic observation and viability determination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin. *Journal of Food Protection* 66, 2222-2230.
- Chantarapanont, W., Berrang, M.E., Frank, J.F., 2004. Direct microscopic observation of viability of *Campylobacter jejuni* on chicken skin treated with selected chemical sanitizing agents. *Journal of Food Protection* 67, 1146-1152.
- Châtre, P., Haenni, M., Meunier, D., Botrel, M.A., Calavas, D., Madec, J.Y., 2010. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolated from Cattle between 2002 and 2006 in France. *Journal of Food Protection* 73, 825-831.
- Chattopadhyay, U.K., Rashid, M., Sur, S.K., Pal, D., 2001. The occurrence of campylobacteriosis in domestic animals and their handlers in and around Calcutta. *Journal of Medical Microbiology* 50, 933-934.
- Chaveerach, P., Ter Huurne, A.A.H.M., Lipman, L.J.A., Van Knapen, F., 2003. Survival and resuscitation of ten strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* under acid conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 711-714.
- Chaveerach, P., Keuzenkamp, D.A., Lipman, L.J.A., Van Knapen, F., 2004. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poultry Science* 83, 330-334.
- Chen, J., Sun, X., Zeng, Z., Yu, Y., 2011. *Campylobacter* enteritis in adult patients with acute diarrhea from 2005 to 2009 in Beijing, China. *Chinese Medical Journal* 124, 1508-1512.
- Chen, X., Naren, G.W., Wu, C.M., Wang, Y., Dai, L., Xia, L.N., Luo, P.L., Zhang, Q., Shen, J.Z., 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Veterinary Microbiology* 144 (1-2), 133-139.
- 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. *Tropical Biomedicine* 28, 16-20.

- Chuma, T., Makino, K., Okamoto, K., Yugi, H., 1997. Analysis of distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broilers by using restriction fragment length polymorphism of flagellin gene. *Journal of Veterinary Medical Science* 59, 1011-1015.
- Chuma, T., Ikeda, T., Maeda, T., Niwa, H., Okamoto, K., 2001. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from broilers in the southern part of Japan from 1995 to 1999. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 63, 1027-1029.
- Clark, A. G., Bueschkens, D.H., 1985. Laboratory infection of chicken eggs with *Campylobacter jejuni* by using temperature or pressure differentials. *Applied and Environmental Microbiology* 49, 1467-1471.
- Clark, B., McKendrick, M., 2004. A review of viral gastroenteritis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 17, 461-469.
- Clark, J.D., Oakes, R.D., Redhead, K., Crouch, C.F., Francis, M.J., Tomley, F.M., Blake, D.P., 2012. Eimeria species parasites as novel vaccine delivery vectors: anti-*Campylobacter jejuni* protective immunity induced by *Eimeria tenella*-delivered CjaA. *Vaccine* 30, 2683-2688.
- Codex Alimentarius, 2011. Directrices para el control de *Campylobacter* y *Salmonella* en la carne de pollo. CAC/GL 7-2011.
- Coker, A.O., Isokpehi, R.D., Thomas, B.N., Amisu, K.O., Obi, C.L., 2002. Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* 8, 237-243.
- Cools, I., Uyttendaele, M., Clerfaut, J., D'Haese, E., Nelis, H.J., Debevere, J., 2005. Persistence of *Campylobacter jejuni* on surfaces in a processing environment and on cutting boards. *Letters in Applied Microbiology* 40, 418-423.
- Corry, J.E.L., Atabay, H.I., 1997. Comparison of the productivity of cefoperazone amphotericin teicoplan (CAT) agar and modified charcoal cefoperazone deoxycholate (mCCD) agar for various strains of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter pullorum*. *International Journal of Food Microbiology* 38, 201-219.
- Corry, J.E.L., Atabay, H.I., 2001. Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *Applied Microbiology* 90, 96S-114S.
- Corry, J., Purnell, G., James, C., James, S., 2006. Commercial trials to investigate the feasibility under commercial conditions of decontaminating chicken carcasses using hot water immersion at 80 °C for 20 s. FSA Project no. MO 1019: Physical methods readily adapted to existing commercial lines for reducing pathogens, particularly *Campylobacter*, on raw poultry.
- Corry, J., Purnell, G., James, C., Pinho, R., Hedges, A., Jorgensen, F., James, S.J., Howell, M., 2008. Evaluation of chemicals for the inactivation of naturally occurring thermophilic *Campylobacter* spp. on poultry carcasses. *Food Microbiology*, Aberdeen, 1-4 September 2008.
- Couturier, B.A., Hale, D.C., Couturier, M.R., 2012. Association of *Campylobacter upsaliensis* with persistent bloody diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 50, 3792-3794.
- Cox, N., Stern, N., Wilson, J., Musgrove, M., Buhr, R., Hiett, R., 2001. Isolation of campylobacter from semen samples of commercial 50 week old parent roosters. *International Journal of Medical Microbiology* 291, 39.
- Craven, S.E., Stern, N.J., Line, E., Bailey, J.S., Cox, N.A., Fedorka-Cray, P., 2000. Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in wild birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian Diseases* 44, 715-720.
- Crushell, E., Harty, S., Sharif, F., Bourke, B., 2004. Enteric *Campylobacter*: purging its secrets? *Pediatric Research* 55, 3-12
- D'lima, C.B., Miller, W.G., Mandrell, R. E., Wright, S.L., Siletzky, R.M., Carver, D.K., Kathariou, S., 2007. Clonal population structure and specific genotypes of multidrug-resistant *Campylobacter coli* from turkeys. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 2156-2164.

- Damborg, P., Olsen, K.E.P., Nielsen, E.M., Guardabassi, L., 2004. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in pets living with human patients infected with *C. jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 1363-1364.
- Damborg, P., Guardabassi, L., Pedersen, K., Kokotovic, B., 2008. Comparative analysis of human and canine *Campylobacter upsaliensis* isolates by amplified fragment length polymorphism. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 1504-1506.
- Damjanova, I., Jakab, M., Farkas, T., Mészáros, J., Galántai, Zs., Turcsányi, I., Bistyák, A., Juhász, Á., Pásztai, J., Kiss, 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, 95-102.
- Danis, K., Di Renzi, M., O'Neill, W., Smyth, B., McKeown, P., Foley, B., Tohani, V., Devine, M., 2009. Risk factor for sporadic *Campylobacter* infection: an all-Ireland case-control study. *Eurosurveillance* 14 (7), 1-8.
- 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. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 205-211.
- De los Santos, F.S., Donoghue, A.M., Venkitanarayanan, K., Metcalf, J.H., Reyes-Herrera, I., Dirain, M.L., Aguiar, V.F., Blore, P.J., Donoghue, D.J., 2009. The natural feed additive caprylic acid decreases *Campylobacter jejuni* colonization in market-aged broiler chickens. *Poultry Science* 88, 61-64.
- De Vries, J.J.C., Arents, N.L.A., Manson, W.L., 2008. *Campylobacter* species isolated from extra-oro-intestinal abscesses: a report of four cases and literature review. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 27, 1119-1123.
- De Zoete, M.R., Van Putten, J.P., Wagenaar, J.A., 2007. Vaccination of chickens against *Campylobacter*. *Vaccine* 25, 5548-5557.
- Debruyne, L., Gevers, D., Vandamme, P., 2008. Taxonomy of the family Campylobacteraceae. En I. Nachamkin, C.M. Szymanski y M.J. Blaser (Eds.). *Campylobacter* (3rd Edition). (pp. 3-25). Washington D.C.: ASM Press.
- Decaro, N., Martella, V., Desario, C., Bellacicco, A.L., Camero, M., Manna, L., D'Aloja, D., Buonavoglia, C., 2006. First detection of canine *Parvovirus* type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 53, 468-472.
- Dediste, A., Vandenberg, O., Vlaes, L., Ebraert, A., Douat, N., Bahwere, P., Butzler, J.P., 2003. Evaluation of ProSpecT Microplate Assay for detection of *Campylobacter*: a routine laboratory perspective. *Clinical Microbiology and Infection* 9, 1085-1090.
- Dekeyser, P., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J.P., Sternon, J., 1972. Acute enteritis due to a related vibrio: first positive stool cultures. *The Journal of Infectious Diseases* 125, 390-392.
- Delezie, E., Zoons, J., Buyse, J., Decuyper, E., 2006. Influence of whole wheat inclusion on optimal feed withdrawal duration. *British Poultry Science* 47, 572-575.
- Di Giannatale, E., Prencipe, V., Colangeli, P., Alessiani, A., Barco, L., Staffolani, M., Tagliabue, S., Grattarola, C., Cerrone, A., Costa, A., Pisanu, M., Santucci, U., Iannitto, G., Migliorati, G., 2010. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in broiler flocks and broiler carcasses in Italy. *Veterinaria Italiana* 46, 405-423.
- Dillon, A.R., Boosinger, T.R., Blevins, W.T., 1987. *Campylobacter* enteritis in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 9, 1176-1183.
- Dinant, S., Schurink, C. A.M., Deckers, J.W., Severin, J.A., 2011. Aortic homograft endocarditis caused by *Campylobacter jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology* 49, 4016-4017.
- Dingle, K.E., Blaser, M.J., Tu, Z.C., Pruckler, J., Fitzgerald, C., Van Bergen, M.A.P., Lawson, A.J., Owen, R.J., Wagenaar, J.A., 2010. Genetic relationships among reptilian and mammalian *Campylobacter fetus* strains determined by multilocus sequence typing. *Journal of Clinical Microbiology* 48, 977-980.

- Domínguez, C., Gómez, I., Zumalacárregui, J., 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology* 72, 165-168.
- Doorduyn, Y., Van den Brandhof, W.E., Van Duynhoven, Y.T.H.P., Breukink, B.J., Wagenaar, J.A., Van Pelt, W., 2010. Risk factors for indigenous *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections in The Netherlands: a case-control study. *Epidemiology and Infection* 138, 1391-1404.
- Dorrell, N., Wren, B.W., 2007. The second century of *Campylobacter* research: recent advances, new opportunities and old problems. *Current Opinion in Infectious Diseases* 20, 514-518.
- Doyle, L.P., 1948. The etiology of swine dysentery. *American Journal of Veterinary Research* 9, 50,51.
- Doyle, M.P. 1984. Association of *Campylobacter jejuni* with laying hens and eggs. *Applied and Environmental Microbiology* 47, 533-536.
- Dronda, F., Garcia-Arata, I., Navas, E., De Rafael, L.L., 1998. Meningitis in adults due to *Campylobacter fetus* subspecies *fetus*. *Clinical Infectious Diseases* 27, 906-907.
- Duim, B., Wassenaar, T.M., Rigter, A., Wagenaar, J. A., 1999. High-resolution genotyping of *Campylobacter* strains isolated from poultry and humans with AFLP fingerprinting. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 2369-2375.
- Duim, B., Vandamme, P.A.R., Rigter, A., Laevens, S., Dijkstra, J.R., Wagenaar, J.A., 2001. Differentiation of *Campylobacter* species by AFLP fingerprinting. *Microbiology* 147, 2729-2737.
- EFSA Journal, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs, 173, 1-10.
- EFSA Journal, 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates, 8(03):1503.
- EFSA Journal, 2011. Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain, 9(4):2105.
- EFSA Journal, 2012a. The European Union Summary Report Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010, 10(3):2597.
- EFSA Journal, 2012b. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2010, 10(3):2598.
- EFSA Journal, 2013. European Food Safety Authority. European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011, 11(4):3129.
- Ellerbroek, L.I., Lienau, J.A., Klein, G., 2010. *Campylobacter* spp. in broiler flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter. *Zoonoses and Public Health* 57, e81-e88.
- Ellis-Iversen, J., Jorgensen, F., Bull, S., Powell, L., Cook, A.J., Humphrey, T.J., 2009. Risk factors for *Campylobacter* colonization during rearing of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine* 89, 178-184.
- Ellis-Iversen, J., Ridley, A., Morris, V., Sowa, A., Harris, J., Atterbury, R., Sparks, N., Allen, V., 2012. Persistent environmental reservoirs on farms as risk factors for *Campylobacter* in commercial poultry. *Epidemiology and Infection* 140, 916-924.
- El-Shibiny, A., Connerton, P., Connerton, I., 2009a. Survival at refrigeration and freezing temperatures of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* on chicken skin applied as axenic and mixed inoculums. *International Journal of Food Microbiology* 131 (2-3), 197-202.

- El-Shibiny, A., Scott, A., Timms, A., Metawea, Y., Connerton, P., Connerton, I., 2009b. Application of a group II *Campylobacter* bacteriophage to reduce strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* colonizing broiler chickens. *Journal of Food Protection* 72, 733-740.
- Elvers, K.T., Morris, V.K., Newell, D.G., Allen, V.M., 2011. Molecular tracking, through processing, of *Campylobacter* strains colonizing broiler flocks. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 5722-5729.
- Endtz, H.P., Ruijs, G.J., Zwinderman, A.H., Van Der Reijden, T., Biever, M., Mouton, R.P., 1991. Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 29, 1007-1010
- Endtz, H.P., Vliegthart, J.S., Vandamme, P., Weverink, H.W., Van den Braak, N.P., Verbrugh, H.A., Van Belkum, A., 1997. Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in The Netherlands. *International Journal of Food Microbiology* 34, 79-88.
- Engberg, J., Andersen, S., Skov, R., Aarestrup, F.M., Gerner-Smidt, P., 1999. Comparison of two agar dilution methods and three agar diffusion methods, including the Etest, for antibiotic susceptibility testing of thermophilic *Campylobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection* 5, 580-584.
- Englen, M.D., Hill, A.E., Dargatz, D.A., Ladely, S.R., Fedorka-Cray, P.J., 2007. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* in US dairy cattle. *Journal of Applied Microbiology* 102, 1570-1577.
- Engvall, A., Bergqvist, A., Sandstedt, K., Danielsson-Tham, M., 1986. Colonisation of broilers with campylobacter in conventional broiler-chicken flocks. *Acta Veterinaria Scandinavica* 27, 540-547.
- Engvall, E.O., Brändström, B., Gunnarsson, A., Mörner, T., Wahlström, H., Fermér, C., 2002. Validation of a polymerase chain reaction/restriction enzyme analysis method for species identification of thermophilic campylobacters isolated from domestic and wild animals. *Journal of Applied Microbiology* 92, 47-54.
- Engvall, E.O., Brändström, B., Andersson, L., Baverud, V., Trowald-Wigh, G., Englund, L., 2003. Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in faecal samples from Swedish dogs. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 35, 713-718.
- Escherich, T., 1886. Beiträge zur Kenntniss der Darmbakterien. III. Ueber das Vorkommen von Vibrionen im Darmcanal und den Stuhlgängen der Säuglinge. (Articles adding to the knowledge of intestinal bacteria. III. On the existence of vibrios in the intestines and feces of babies.) *Münchener Med Wochenschrift* 33, 815-817.
- Etoh, Y., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Yamamoto, A., Goto, N., 1993. *Campylobacter showae* sp. Nov. isolated from the human oral cavity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 43, 631-639.
- EUCAST, 2000. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. EUCAST definitive document E. Def 3.1. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).
- EUCAST, 2012. European Committee on antimicrobial susceptibility testing. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (www.eucast.org).
- European Commission. Enterprise and Industry., 2011. Study on the competitiveness of the European meat processing industry. Publications Office of the European Union; ISBN 978-92-79-19003-2; catalogue number: NB-32-11-640-EN-N; doi: 10.2769/11795. http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/food/files/report_compmeat_en.pdf
- Evans, M.R., Ribeiro, C.D., Salmon, R.L., 2003. Hazards of healthy living: bottled water and salad vegetables as risk factors for *Campylobacter* infection. *Emerging Infectious Diseases* 9, 1219-1225.
- Evans, S.J., 1992. Introduction and spread of thermophilic campylobacters in broiler flocks. *Veterinary Record* 131, 574-576.
- Evans, S., Sayers, A.R., 2000. A longitudinal study of campylobacter infection of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine* 46, 209-223.

- Everest, P.H., Goossens, H., Butzler, J.P., Lloyd, D., Knutton, S., Ketley, J.M. and Williams, P.H. 1992. Differentiated Caco-2 cells as a model for enteric invasion by *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Journal of Medical Microbiology* 37, 319-325.
- Fallacara, D.M., Monahan, C.M., Morishita, T.Y., Wack, R.F., 2001. Fecal shedding and antimicrobial susceptibility of selected bacterial pathogens and a survey of intestinal parasites in free-living waterfowl. *Avian Diseases* 45, 128-135.
- FAO, 2012. *Statistical Yearbook 2012*. Word Food and Agriculture.
- Fernández, H., Oval, A., 2013. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* biotypes and antimicrobial susceptibility in healthy dogs in southern Chile. *Acta Scientiae Veterinariae* 41, 1100.
- Fernández-Cruz, A., Muñoz, P., Mohedano, R., Valerio, M., Marín, M., Alcalá, L., Rodríguez-Créixems, M., Cercenado, E., Bouza, E., 2010. *Campylobacter* bacteremia: clinical characteristics , incidence, and outcome over 23 years. *Medicine* 89, 319-330.
- Figueroa, G., Troncoso, M., Lopez, C., Rivas, P., Toro, M., 2009. Occurrence and enumeration of *Campylobacter* spp. during the processing of Chilean broilers. *BMC Microbiology* 9, 94.
- Florent, A., 1959. Les deux Vibrioses génitales de la bête bovine: la vibriose vénérienne, due à *V. foetus venerialis*, et la Vibriose d'origine intestinale due à *V. foetus intestinalis*. *Proc 16th Int Vet Congr* 2, 489-493.
- Fluckey, W.M., Sanchez, M.X., McKee, S.R., Smith, D., Pendleton, E., Brashears, M.M., 2003. Establishment of a microbiological profile for an air-chilling poultry operation in the United States. *Journal of Food Protection* 66, 272-279.
- Forbes, K.J., Gormley, F.J., Dallas, J.F., Labovitiadi, M., MacRae, M., Owen, R.J., Richardson, J., Strachan, N.J.C., Cowden, J.M., Ogden, I.D., McGuigan, C.C., 2009. *Campylobacter* immunity and coinfection following a large outbreak in a farming community. *Journal of Clinical Microbiology* 47, 111-116.
- Ford, T.E., 1999. Microbiological safety of drinking water: United States and global perspectives. *Environmental Health Perspectives* 107, 191-206.
- Forsythe, S.J., 2000. Food poisoning microorganisms. En S.J. Forsythe (Ed.). *The Microbiology of Safe Food* (pp. 87-148). Abingdon: Blackwell Science Publishers.
- Fouts, D.E., Mongodin, E.F., Mandrell, R.E., Miller, W.G., Rasko, D.A., Ravel, J., Brinkac, L.M., DeBoy, R.T., Parker, C.T., Daugherty, S.C., Dodson, R.J., Durkin, A.S., Madupu, R., Sullivan, S.A., Shetty, J.U., Ayodeji, M.A., Shvartsbeyn, A., Schatz, M.C., Badger, J.H., Fraser, C.M., Nelson, K.E., 2005. Major structural differences and novel potential virulence mechanisms from the genomes of multiple *Campylobacter* species. *PLoS Biology* 3, 72-85.
- Fox, J.G., Maxwell, K.O., Ackerman, J.I., 1984. *Campylobacter jejuni* associated diarrhea in commercially reared beagles. *Laboratory Animal Science* 34, 151-155.
- Frederick, A., Huda, N., 2011. *Campylobacter* in poultry: incidences and possible control measures. *Research Journal of Microbiology* 6, 182-192.
- Friedman, C.R., Neimann, J., Wegener, H.C., Tauxe, R.V., 2000. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infection in the United States and other industrialized nations, En: I. Nachamkin y M.J. Blaser (Eds.), *Campylobacter* (2nd edition). (pp. 121-138) Washington D.C.: ASM Press.
- Friedman, C.R., Hoekstra, R.M., Samuel, M., Marcus, R., Bender, J., Shiferaw, B., Reddy, S., Ahuja, S.D., Helfrick, d.L., Hardnett, F., Carter, M., Anderson, B., Tauxe, R.V., 2004. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: a case-control study in FoodNet Sites. *Clinical Infectious Diseases* 38, S285-S296.
- Frost, J.A., Oza, A.N., Thwaites, R.T., Rowe, B., 1998. Serotyping scheme for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on direct agglutination of heat stable antigens. *Journal of Clinical Microbiology* 36, 335-339.

- Frost, J.A., Kramer, J.M., Gillanders, S.A., 1999. Phage typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and its use as an adjunct to serotyping. *Epidemiology and Infection* 123, 47-55.
- Fry, B.N., Feng, S., Chen, Y.Y., Newell, D.G., Coloe, P.J., Korolik, V., 2000. The *galE* gene of *Campylobacter jejuni* is involved in lipopolysaccharide synthesis and virulence. *Infection and Immunity* 68, 2594-2601.
- Ganapathy, K., Saleha, A.A., Jaganathan, M., Tan, C.G., Chong, C.T., Tang, S.C., Ideris, A., Dare, C.M., Bradbury, J.M., 2007. Survey of campylobacter, salmonella and mycoplasmas in house crows (*Corvus splendens*) in Malaysia. *Veterinary Record* 160, 622-624.
- García, A.B., Steele, W.B., Taylor, D.J., 2010. Prevalence and carcass contamination with *Campylobacter* in sheep sent for slaughter in Scotland. *Journal of Food Safety* 30, 237-250.
- García, F.J., Pérez, I., Pérez, D., Echeita, A., 2006. Campilobacteriosis: Aspectos clínicos y epidemiológicos. Programas de seguimiento y control. *Profesión Veterinaria* 16, 66-74.
- Garénaux, A., Jugiau, F., Rama, F., Jonge, R., Denis, M., Federighi, M., Ritz, M., 2008. Survival of *Campylobacter jejuni* strains from different origins under oxidative stress conditions: effect of temperature. *Current Microbiology* 56, 293-297.
- Garin, B., Gouali, M., Wouafo, M., Perchec, A.M., Thu, P.M., Ravaonindrina, N., Urbès, F., Gay, M., Diawara, A., Leclercq, A., Rocourt, J., Pouillot, R., 2012. Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. *International Journal of Food Microbiology* 157, 102-107.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G., 2003. Taxonomic outline of the prokaryotes *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1-397.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 2005. Class V. Epsilonproteobacteria class. nov. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 1145-1194.
- Ge, B., White, D.G., McDermott, P.F., Girard, W., Zhao, S., Hubert, S., Meng, J., 2003. Antimicrobial-Resistant *Campylobacter* Species from Retail Raw Meats. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 3005-3007.
- Ge, Z., Schauer, D.B., Foz, J.G., 2008. In vivo virulence properties of bacterial cytolethal-distending toxin. *Cellular Microbiology* 10, 1599-1607.
- Georgsson, F., Porkelsson, A.E., Geirsdottir, M., Reiersen, J., Stern, N.J., 2006. The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. *Food Microbiology* 23, 677-683.
- Ghosh, R., Uppal, B., Aggarwal, P., Chakravarti, A., Kumar Jha, A., 2013. Increasing antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from paediatric diarrhea cases in a tertiary care hospital of New Delhi, India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 7, 247-249.
- Giacoboni, G.I., Itoh, K., Hirayama, K., Takahashi, E., Mitsuoka, T., 1993. Comparison of fecal *Campylobacter* in calves and cattle of different ages and areas in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 55, 555-559.
- Gillespie, I.A., O'Brien, S.J., Frost, J.A., Adak, G.K., Horby, P., Swan, A.V., Painter, M.J., Neal, K.R., 2002. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses. *Emerging Infectious Diseases* 8, 937-942.
- Glass, R.I., Parashar, U.D., Bresee, J.S., Turcios, R., Fischer, T.K., Widdowson, M.A., Jiang, B., Gentsch, J.R., 2006. *Rotavirus* vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet* 368, 323-332.
- Godschalk, P.C.R., Kuijff, M.L., Li, J., Michael, F.S., Wimang, C., Jacobs, B.C., Karwaski, M.F., Brochu, D., Moterassed, A., Endtz, H.P., Van Belkum, A., Gilbert, M., 2007. Structural characterization of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide outer cores associated with Guillain-Barré and Miller Fischer syndromes. *Infection and Immunity* 75, 1245-1254.
- González-Abad, M.J., Alonso-Sanz, M., 2013. Incidence and susceptibility of *Campylobacter jejuni* in pediatric patients: involvement in bacteriemia. *Revista Española de Quimioterapia* 26, 92-96.

- 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. *Journal of Clinical Microbiology* 24, 840-843.
- Goossens, H., Vlaes, L., Galand, I., Van den Borre, C., Butzler, J.P., 1989. Semisolid blood-free selective-motility medium for the isolation of campylobacters from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 1077-1080.
- Goossens, H., Pot, B., Vlaes, L., Van Den Borre, C., Van Den Abbeele, R., Van Naelten, C., Levy, J., Cogniau, H., Marbehant, P., Verhoef, J., 1990. Characterization and description of "*Campylobacter upsaliensis*" isolated from human feces. *Journal of Clinical Microbiology* 28, 1039-1046.
- Gorkiewicz, G., Feierl, G., Zechner, R., Zechner, E.L., 2002. Transmission of *Campylobacter hyointestinalis* from a pig to a human. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 2601-2605.
- Gorkiewicz, G., Feierl, G., Schober, C., Dieber, F., Köfer, J., Zechner, R., Zechner, E.L., 2003. Species-specific identification of campylobacters by partial 16S rRNA gene sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 41, 2537-2546.
- Grant, C.C.R., Konkell, M.E., Cieplak, W., Jr., Tompkins, L.S., 1993. Role of flagella in adherence, internalization, and translocation of *Campylobacter jejuni* in nonpolarized and polarized epithelial cell cultures. *Infection and Immunity* 61, 1764-1771.
- Green, C.G., Krause, D.O., Wylie, J.L., 2006. Spatial analysis of campylobacter infection in the Canadian province of Manitoba. *International Journal of Health Geographics* 5, 2.
- Gregory, E., Bamhart, H., Dreesen, D.W., Stern, N.J., Corn, J.L., 1997. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonisation and prevalence. *Avian Diseases* 41, 890-898.
- Griekspoor, P., Olsen, B., Waldenström, J., 2009. *Campylobacter jejuni* in Penguins, Antarctica. *Emerging Infectious Diseases* 15, 847-849.
- Grinberg, A., Pomroy, W.E., Weston, J.F., Ayanegui-Alcerrecra, A., Knight, D., 2005. The occurrence of *Cryptosporidium parvum*, *Campylobacter* and *Salmonella* in newborn dairy calves in the Manawatu region of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 53, 315-320.
- Guerin, M.T., Martin, W., Reiersen, J., Berke, O., McEwen, S.A., Bisailon, J., Lowman, R., 2007. House-level risk factors associated with the colonization of broiler flocks with *Campylobacter* spp. in Iceland, 2001-2004. *BMC Veterinary Research* 3, 30.
- Guerin, M.T., Sir, C., Sargeant, J.M., Waddell, L., O'Connor, A.M., Wills, R.W., Bailey, R.H., Byrd, J.A., 2010. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: A systematic review. *Poultry Science* 89, 1070-1084.
- Guerry, P., 2007. *Campylobacter* flagella: not just for motility. *Trends in Microbiology* 15, 456-461.
- Guest, C.M., Stephen, J.M., Price, C.J., 2007. Prevalence of *Campylobacter* and four endoparasites in dog populations associated with hearing dogs. *Journal of Small Animal Practice* 48, 632-637.
- Gunther, N.W., Chen, C., 2009. The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*. *Food Microbiology* 26, 44-51.
- Hackett, T., Lappin, M.R., 2003. Prevalence of enteric pathogens in dogs of north-central Colorado. *Journal of the American Animal Hospital Association* 39, 52-56.
- Halbert, L.W., Kaneene, J.B., Mansfield, L.S., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Wells, S.J., Fossler, C.P., Campbell, A.M., Geiger-Zwald, A.M., 2005. Comparison of automated microbroth dilution and agar dilution for antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolated from dairy sources. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 686-691.
- Hald, B., Madsen, M., 1997. Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 3351-3352.

- Hald, B., Wedderkopp, A., Madsen, M., 2000. Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathology* 29, 123-131.
- Hald, B., Knudsen, K., Lind, P., Madsen, M., 2001a. Study of the infectivity of saline-stored *Campylobacter jejuni* for day-old chicks. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 2388-2392.
- Hald, B., Rattenborg, E., Madsen, M., 2001b. Role of batch depletion of broiler houses on the occurrence of *Campylobacter* spp. in chicken flocks. *Letters in Applied Microbiology* 32, 253-256.
- Hald, B., Pedersen, K., Waino, M., Jorgensen, J. C., Madsen, M., 2004. Longitudinal study of the excretion patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. in young pet dogs in Denmark. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 2003-2012.
- Hald, B., Sommer, H.M., Skovgard, H., 2007. Use of fly screens to reduce *Campylobacter* spp. introduction in broiler houses. *Emerging Infectious Diseases* 13, 1951-1953.
- Hald, B., Skovgard, H., Pedersen, K., Bunkenborg, H., 2008. Influxed Insects as vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in danish broiler houses. *Poultry Science* 87, 1428-1434.
- Hanning, I., Biswas, D., Herrera, P., Roesler, M., Ricke, S.C., 2010. Prevalence and characterization of *Campylobacter jejuni* isolated from pasture flock poultry. *Journal of Food Science* 75, M496-M502.
- Hannu, T., Mattila, L., Rautelin, H., Pelkonen, P., Lahdenne, P., Siitonen, A., Leirisalo-Repo, M., 2002. *Campylobacter*-triggered reactive arthritis: a population-based study. *Rheumatology* 41, 312-318.
- Hansson, I., Vagsholm, I., Svensson, L., Engvall, E.O., 2007. Correlations between *Campylobacter* spp. prevalence in the environment and broiler flocks. *Journal of Applied Microbiology* 103, 640-649.
- Hansson, I., Engvall, E.O., Vagsholm, I., Nyman, A., 2010a. Risk factors associated with the presence of *Campylobacter*-positive broiler flocks in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine* 96, 114-121.
- Hansson, I., Pudas, N., Harbom, B., Engvall, E.O., 2010b. Within-flock variations of *Campylobacter* loads in caeca and on carcasses from broilers. *International Journal of Food Microbiology* 141, 51-55.
- Haruna, M., Sasaki, Y., Murakami, M., Ikeda, A., Kusakawa, M., Tsujiyama, Y., Ito, K., Asai, T., Yamada, Y., 2011. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* in broiler flocks in Japan. *Zoonoses and Public Health* 59, 241-245.
- Harvey, P., Battle, T., Leach, S., 1999. Different invasion phenotypes of *Campylobacter* isolates in Caco-2 cell monolayers. *Journal of Medical Microbiology* 48, 461-469.
- Hastings, D.H., 1978. *Campylobacter* enteritis in pets. *Lancet* II, 1249-1250.
- Havelaar, A.H., Mangen, M.J., De Koeijer, A.A., Bogaardt, M.J., Evers, E.G., Jacobs-Reitsma, W.F., Van Pelt, W., Wagenaar, J.A., De Wit, G.A., Van der Zee, H., Nauta, M.J., 2007. Effectiveness and efficiency of controlling *Campylobacter* on broiler chicken meat. *Risk Analysis* 27, 831-844.
- Havelaar, A.H., Van Pelt, W., Ang, C.W., Wagenaar, J.A., Van Putten, J.P.M., Groß, U., Newell, D.G., 2009. Immunity to *Campylobacter*: its role in risk assessment and epidemiology. *Critical Reviews in Microbiology* 35, 1-22.
- 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. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 6887-6891.
- Heikema, A.P., Jacobs, B.C., Horst-Kreft, D., Huizinga, R., Kuijff, M.L., Endtz, H.P., Samsom, J.N., Van Wamel, W.J.B., 2013. Siglec-7 specifically recognizes *Campylobacter jejuni* strains associated with oculomotor weakness in Guillain-Barré syndrome and Miller Fisher syndrome. *Clinical Microbiology and Infection* 19, E106-E112.
- Hendrixson, D.R., 2006. A phase-variable mechanism controlling the *Campylobacter jejuni* FlgR response regulator influences commensalism. *Molecular Microbiology* 61, 1646-1659.

- Hendrixson, D.R., Akerley, B.J., DiRita, V.J., 2001. Transposon mutagenesis of *Campylobacter jejuni* identifies a bipartite energy taxis system required for motility. *Molecular Microbiology* 40, 214-224.
- Hendrixson, D.R., DiRita, V.J., 2004. Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. *Molecular Microbiology* 52, 471-484.
- Henry, I., Reichardt, J., Denis, M., Cardinale, E., 2011. Prevalence and risk factors for *Campylobacter* spp. in chicken broiler flocks in Reunion Island (Indian Ocean). *Preventive Veterinary Medicine* 100, 64-70.
- Herman, L., Heyndrickx, M., Grijspeerdt, K., Vandekerchove, D., Rollier, I., De Zutter, L., 2003. Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiology and Infection* 131, 1169-1180.
- Hermans, D., Martel, A., Van Deun, K., Verlinden, M., Van Immerseel, F., Garmyn, A., Messens, W., Heyndrickx, M., Haesebrouck, F., Pasmans, F., 2010. Intestinal mucus protects *Campylobacter jejuni* in the ceca of colonized broiler chickens against the bactericidal effects of medium-chain fatty acids. *Poultry Science* 89, 1144-1155.
- Hickey, T.E., Baqar, S., Bourgeois, A.L., Ewing, C.P., Guerry, P., 1999. *Campylobacter jejuni*-stimulated secretion of interleukin-8 by INT407 cells. *Infection and Immunity* 67, 88-93.
- Hidalgo, Á., Rubio, P., Osorio, J., Carvajal, A., 2010. Prevalence of *Brachyspira pilosicoli* and "*Brachyspira canis*" in dogs and their association with diarrhoea. *Veterinary Microbiology* 146, 356-360.
- Hiett, K. L., Cox, N.A., Buhr, R.J., Stern, N.J., 2002a. Genotype analyses of *Campylobacter* isolated from distinct segments of the reproductive tracts of broiler breeder hens. *Current Microbiology* 45, 400-404.
- Hiett, K.L., Stern, N.J., Fedorka-Cray, P., Cox, N.A., Musgrove, M.T., Ladely, S., 2002b. Molecular subtype analyses of *Campylobacter* spp. from Arkansas and California poultry operations. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 6220-6236.
- Hindiyeh, M., Jense, S., Hohmann, S., Benett, H., Edwards, C., Aldeen, W., Croft, A., Daly, J., Mottice, S., Carroll, K.C., 2000. Rapid detection of *Campylobacter jejuni* in stool specimens by an enzyme immunoassay and surveillance for *Campylobacter upsaliensis* in the greater Salt Lake City area. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 3076-3079.
- Hinton, A., Cason, J.A., Hume, M.E., Ingram, K.D., 2004. Spread of *Campylobacter* spp. During Poultry Processing in Different Seasons. *International Journal of Poultry Science* 3, 432-437.
- Hofreuter, D., Tsai, J., Watson, R.O., Novik, V., Altman, B., Benitez, M., Clark, C., Perbost, C., Jarvie, T., Du, L., Galán, J.E., 2006. Unique features of a highly pathogenic *Campylobacter jejuni* strain. *Infection and Immunity* 74, 4694-4707.
- Hood, A.M., Pearson, A.D., Shahamat, M., 1988. The extent of surface contamination of retailed chickens with *Campylobacter jejuni* serogroups. *Epidemiology and Infection* 100, 17-25.
- Hosmer, D.W., Lemeshow, S., 2000. Applied logistic regression. 2nd Edition. Wiley Series in Probability and Statistics. Interscience Press.
- Hou, F.Q., Sun, X.T., Wang, G.Q., 2012. Clinical manifestations of *Campylobacter jejuni* infection in adolescents and adults, and change in antibiotic resistance of the pathogen over the past 16 years. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44, 439-443.
- Hu, T.L., Kuo, P.C., 2011. Isolation of *Campylobacter* spp. in surface waters of Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 44, 15-20.
- Hu, L., Hickey, T.E., 2005. *Campylobacter jejuni* induces secretion of proinflammatory chemokines from human intestinal epithelial cells. *Infection and Immunity* 73, 4437-4440.
- Hue, O., Le Bouquin, S., Laisney, M.J., Allain, V., Lalande, F., Petetin, I., Rouxel, S., Quesne, S., Gloaguen, P.Y., Picherot, M., Santolini, J., Salvat, G., Bougeard, S., Chemaly, M., 2010. Prevalence of and risk factors for

- Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. Food Microbiology 27, 992-999.
- Hue, O., Allain, V., Laisney, M., Le Bouquin, S., Lalande, F., Petetin, I., Rouxel, S., Quesne, S., Gloaguen, P., Picherot, M., Santolini, J., Bougeard, S., Salvat, G., Chemaly, M., 2011. *Campylobacter* contamination of broiler caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with *Salmonella* contamination. Food Microbiology 28, 862-868.
- Humphrey, T.J., 1992. *Campylobacter jejuni*: some aspects of epidemiology, detection and control. British Food Journal 94, 21-25.
- Humphrey, T., O'Brien, S., Madsen, M., 2007. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. International Journal of Food Microbiology 117, 237-257.
- Ikeda, N., Karlyshew, A.V., 2012. Putative mechanisms and biological role of coccoid form formation in *Campylobacter jejuni*. European Journal of Microbiology and Immunology 2, 41-49.
- ISO, 2006a. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection Method. Geneva: International Organization for Standardization. [ISO 10272-1:2006].
- ISO, 2006b. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp. Part 2: Colony Count Technique. Geneva: International Organization for Standardization. [ISO/TS 10272-2:2006]
- Jacobs-Reitsma, W. 1995. *Campylobacter* in breeder flocks. Avian Diseases 39, 355-359.
- Jacobs-Reitsma, W.F., Bolder, N.M., Mulder, R.W., 1994. Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in Dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. Poultry Science 73, 1260-1266.
- Jacobs-Reitsma, W. F., Van de Giessen, A.W., Bolder, N.M., Mulder, R.W., 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. Epidemiology and Infection 114, 413-421.
- Jagannathan, A., Penn, C., 2005. "Motility," in *Campylobacter*. Molecular and Cellular Biology, eds J.M. Ketley and M.E. Konkel (Norfolk: Horizon Bioscience), 331-347.
- Jang, K. I., Kim, M.G., Ha, S.D., Kim, K.S., Lee, K.H., Chung, D.H., Kim, C.H., Kim, K.Y., 2007. Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions. Journal of Microbiology and Biotechnology 17, 202-206.
- Jenkin, G.A., Tee, W., 1998. *Campylobacter upsaliensis*-associated diarrhea in human immunodeficiency virus-infected patients. Clinical Infectious Diseases 27, 816-821.
- Jennings, J.L., Sait, L.C., Perrett, C.A., Foster, C., Williams, L.K., Humphrey, T.J., Cogan, T.A., 2011. *Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibriotic hepatitis in chickens. Veterinary Microbiology 149, 193-199.
- Jeurissen, S.H., Janse, E.M., Van Rooijen, N., Claassen, E., 1998. Inadequate anti-polysaccharide antibody responses in the chicken. Immunobiology 198, 385-395.
- Jin, S., Joe, A., Lynett, J., Hani, E.K., Sherman, P., Chan, V.L., 2001. JlpA, a novel surface-exposed lipoprotein specific to *Campylobacter jejuni*, mediates adherence to host epithelial cells. Molecular Microbiology 39, 1225-1236.
- Johannessen, G.S., Johnsen, G., Økland, M., Cudjoe, K.S., Hofshagen, M., 2007. Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. Letters in Applied Microbiology 44, 92-97.
- Johnsen, G., Kruse, H., Hofshagen, M., 2006a. Genetic diversity and description of transmission routes for *Campylobacter* on broiler farms by amplified-fragment length polymorphism. Journal of Applied Microbiology 101, 1130-1139.

- Johnsen, G., Kruse, H., Hofshagen, M., 2006b. Genotyping of *Campylobacter jejuni* from broiler carcasses and slaughterhouse environment by amplified fragment length polymorphism. *Poultry Science* 85, 2278-2284.
- Johnsen, G., Kruse, H., Hofshagen, M., 2007. Genotyping of thermotolerant *Campylobacter* from poultry slaughterhouse by amplified fragment length polymorphism. *Journal of Applied Microbiology* 103, 271-279.
- Johnson, W.M., Lior, H., 1988. A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Campylobacter* spp. *Microbial Pathogenesis* 4, 115-126.
- Jones, F.S., Orcutt, M., Little, R.B., 1931. *Vibriosis (Vibrio jejuni* n.sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. *The Journal of Experimental Medicine* 53, 853-864.
- Jones, K., 2001. *Campylobacters* in water, sewage and the environment. *Journal of Applied Microbiology* 90, 68S-79S.
- Jong, A.E.I., Van Asselt, E.D., Zwietering, M.H., Nauta, M.J., Jonge, R., 2012. Extreme heat resistance of food borne pathogens *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium* on chicken breast fillet during cooking. *International Journal of Microbiology* 2012, 1-10.
- Jonsson, M.E., Heier, B.T., Norstrom, M., Hofshagen, M., 2010. Analysis of simultaneous space-time clusters of *Campylobacter* spp. in humans and in broiler flocks using a multiple dataset approach. *International Journal of Health Geographics* 9, 48.
- Jonsson, M. E., Chriél, M., Norström, M., Hofshagen M., 2012. Effect of climate and farm environment on *Campylobacter* spp. colonization in Norwegian broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 107, 95-104.
- Jore, S., Viljugrein, H., Brun, E., Heier, B.T., Borck, B., Ethelberg, S., Hakkinen, M., Kuusi, M., Reiersen, J., Hansson, I., Engvall, E.O., Lofdahl, M., Wagenaar, J.A., Van Pelt, W., Hofshagen, M., 2010. Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997–2007. *Preventive Veterinary Medicine* 93, 33-41.
- Jorgensen, F., Ellis-Iversen, J., Rushton, S., Bull, S.A., Harris, S.A., Bryan, S.J., Gonzalez, A., Humphrey, T.J., 2011. Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 3741-3748.
- Joshua, G.W.P., Guthrie-Irons, C., Karlyshev, A.V., Wren, B.W., 2006. Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology* 152, 387-396.
- Junta de Andalucía, 2013. Portal de la Junta de Andalucía: <http://www.juntadeandalucia.es/index.html>
- Kaiser, P., Howell, M.M.J., Fife, M., Sadeyen, J.R., Salmon, N., Rothwell, L., Young, J., Poh, T.Y., Stevens, M., Smith, J., Burt, D., Swaggerty, C., Kogut, M., 2009. Towards the selection of chickens resistant to *Salmonella* and *Campylobacter* infections. *Bulletin et Mémoires de l'Académie Royale de Médecine de Belgique* 164, 17-25; discussion 25-6.
- Kalischuk, L.D., Inglis, G.D., Buret, A.G., 2009. *Campylobacter jejuni* induces transcellular translocation of commensal bacteria via lipid rafts. *Gut Pathogens* 1, 2.
- Kalmokoff, M., Lanthier, P., Tremblay, T.L., Foss, M., Lau, P.C., Sanders, G., Austin, J., Kelly, J., Szymanski, C.M., 2006. Proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* 11168 biofilms reveals a role for the motility complex in biofilm formation. *Journal of Bacteriology* 188, 4312-4320.
- Kandula, L., Khan, S., Whitcomb, D.C., Lowe, M.E., 2006. Acute pancreatitis in association with *Campylobacter jejuni*-associated diarrhea in a 15-year-old with CFTR mutations: is there a link? *Journal of the Pancreas* 7, 482-485.
- Kapperud, G., Skjerve, E., Vik, L., Hauge, K., Lysaker, A., Aalmen, I., Ostroff, S.M., Potter, M., 1993. Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks. *Epidemiology and Infection*, 111, 245-256.

- Kapperud, G., Espeland, G., Wahl, E., Walde, A., Herikstad, H., Gustavsen, S., Tveit, I., Natas, O., Bevanger, L., 2003. Factors associated with increased and decreased risk of *Campylobacter* infection: a prospective case-control study in Norway. *American Journal of Epidemiology* 158, 234-242.
- Karlyshev, A.V., Wren, B.W., 2001. Detection and initial characterization of novel capsular polysaccharide among diverse *Campylobacter jejuni* strains using alcian blue dye. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 279-284.
- Karmali, M.A., Simor, A.E., Roscoe, M., Fleming, P.C., Smith, S.S., Lane, J., 1986. Evaluation of a blood-free, charcoal based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. *Journal of Clinical Microbiology*, 23, 456-459.
- Kassa, T., Gebre-Selassie, S., Asrat, D., 2007. Antimicrobial susceptibility patterns of thermotolerant *Campylobacter* strains isolated from food animals in Ethiopia. *Veterinary Microbiology* 119, 82-87.
- Kassenborg, H.D., Smith, K.E., Vugia, D.J., Rabatsky-Ehr, T., Bates, M.R., Carter, M.A., Dumas, N.B., Cassidy, M.P., Marano, N., Tauxe, R.V., Angulo, F.J., 2004. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* infections: eating poultry outside of the home and foreign travel are risk factors. *Clinical Infectious Diseases* 38, S279-S284.
- Katsma, W.E.A., De Koeijer, A.A., Jacobs-Reitsma, W.F., Mangen, M.J.J., Wagenaar, J.A., 2007. Assessing interventions to reduce the risk of *Campylobacter* prevalence in broilers. *Risk Analysis* 37, 863-876.
- Kaur, T., Singh, J., Huffman, M.A., Petzelková, K.J., Taylor, N.S., Xu, S., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Debruyne, L., Vandamme, P., Fox, J.G., 2011. *Campylobacter troglodytis* sp. nov., isolated from feces of human-habituated wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) in Tanzania. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 2366-2373.
- Kazwala, R.R., Collins, J.D., Hannan, J., Crinion, R.A., O'Mahony, H., 1990. Factors responsible for the introduction and spread of *Campylobacter jejuni* infection in commercial poultry production. *Veterinary Record* 126, 305-306.
- Keener, K.M., Bashor, M.P., Curtis, P.A., Sheldon, B.W., Kathariou, S., 2004. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3, 105-116.
- Keller, J., Wieland, B., Wittwer, M., Stephan, R., Perreten, V., 2007. Distribution and genetic variability among *Campylobacter* spp. isolates from different animal species and humans in Switzerland. *Zoonoses Public Health* 54, 2-7.
- Kemp, G.K., Aldrich, M.L., Guerra, M.L., Schneider, K.R., 2001. Continuous online processing of fecal and ingesta-contaminated poultry carcasses using an acidified sodium chlorite antimicrobial intervention. *Journal of Food Protection* 64, 807-812.
- Ketley, J.M., 1997. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology* 143, 5-21.
- Kim, C., Hung, Y.C., Russell, S.M., 2005. Efficacy of electrolyzed water in the prevention and removal of fecal material attachment and its microbicidal effectiveness during simulated industrial poultry processing. *Poultry Science* 84, 1778-1784.
- Kim, J.S., Kim, J.W., Kathariou, S., 2008. Differential effect of temperature on natural transformation to erythromycin and nalidixic acid resistance in *Campylobacter coli*. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 6121-6125.
- King, C.H., Shotts Jr, E.B., Wooley, R.E., Porter, K.G., 1988. Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 3023-3033.
- King, V., Bavetsia, A., Bumstead, N., 1993. Effect of host lineage on the virulence of *Campylobacter jejuni/coli* in the chicken embryo model. *FEMS Microbiology Letters* 106, 271-274.
- Kist, M., 1985. The historical background to campylobacter infection: new aspects. In: Pearson, A.D., Skirrow, M.B., Lior, H., Rowe, B., eds. *Campylobacter* III. London: Public Health Laboratory Service, 23-27.

- Klein, G., Beckmann, L., Vollmer, H.M., Bartelt, E., 2007. Predominant strains of thermophilic *Campylobacter* spp. in a German poultry slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology* 117, 324-328.
- Koene, M.G.J., Houwers, D.J., Dijkstra, J.R., Duim, B., Wagenaar, J.A., 2004. Simultaneous presence of multiple *Campylobacter* species in dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 819-821.
- Koene, M.G., Houwers, D.J., Dijkstra, J.R., Duim, B., Wagenaar, J.A., 2009. Strain variation within *Campylobacter* species in fecal samples from dogs and cats. *Veterinary Microbiology* 133, 199-205.
- Konkel, M.E., Babakhani, F., Joens, L.A., 1990. Invasion-related antigens of *Campylobacter jejuni*. *The Journal of Infectious Diseases* 162, 888-895.
- Konkel, M.E., Mead, D.J., Hayes, S.F., Cieplak, W., Jr., 1992. Translocation of *Campylobacter jejuni* across human polarized epithelial cell monolayer cultures. *The Journal of Infectious Diseases* 166, 308-315.
- Konkel, M.E., Garvis, S.G., Tipton, S.L., Anderson Jr., D.E., Cieplak Jr., W., 1997. Identification and molecular cloning of a gene encoding a fibronectin-binding protein (CadF) from *Campylobacter jejuni*. *Molecular Microbiology* 24, 953-963.
- Konkel, M.E., Monteville, M.R., Rivera-Amill, V., Joens, L.A., 2001. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 2, 55-71.
- Korman, T.M., Varley, C.C., Spelman, D.W., 1997. Acute hepatitis associated with *Campylobacter jejuni* bacteraemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 16, 678-681.
- Krause-Gruszczynska, M., Van Alphen, L.B., Oyarzabal, O.A., Alter, T., Hänel, I., Schliephake, A., König, W., Van Putten, J.P., Konkel, M.E., Backert, S., 2007a. Expression patterns and role of the CadF protein in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiology Letters* 274, 9-16.
- Krause-Gruszczynska, M., Rohde, M., Hartig, R., Genth, H., Schmidt, G., Keo, T., König, W., Miller, W.G., Konkel, M.E., Backert, S., 2007b. Role of small Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in host cell invasion of *Campylobacter jejuni*. *Cellular Microbiology* 9, 2431-2444.
- Krutkiewicz, A., Salamaszynska-Guz, A., Rzewuska, M., Klimuszko, D., Binek, M., 2009. Resistance to antimicrobial agents of *Campylobacter* spp. strains isolated from animals in Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 12, 465-472.
- Kudirkiene, E., Malakauskas, M., Malakauskas, A., Bojesen, A.M., Olsen, J.E., 2010. Demonstration of persistent strains of *C. jejuni* within broiler farms over one year period in Lithuania. *Journal of Applied Microbiology* 108, 868-877.
- Kudirkiene, E., Buneviciene, J., Brondsted, L., Ingmer, H., Olsen, J.E., Malakauskas, M., 2011. Evidence of broiler meat contamination with post-disinfection strains of *Campylobacter jejuni* from slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology* 145, 116-120.
- Kudirkiene, E., Cohn, M.T., Stabler, R.A., Strong, P.C., Serniene, L., Wren, B.W., Nielsen, E.M., Malakauskas, M., Brondsted, L., 2012. Phenotypic and genotypic characterizations of *Campylobacter jejuni* isolated from the broiler meat production process. *Current Microbiology* 65, 398-406.
- Kudra, L.L., Sebranek, J.G., Dickson, J.S., Mendonca, A.F., Zhang, Q., Jackson-Davis, A., Prusa, K.J., 2012. Control of *Campylobacter jejuni* in chicken breast meat by irradiation combined with modified atmosphere packaging including carbon monoxide. *Journal of Food Protection* 75, 1728-1733.
- Kulkarni, S.P., Lever, S., Logan, J.M.J., Lawson, A.J., Stanley, J., Shafi, M.S., 2002. Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *Journal of Clinical Pathology* 55, 749-753.
- Kumar, A., Argawal, R.K., Bhilekaonkar, K.N., Shome, B.R., Bachhil, B.N., 2001. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. *International Journal of Food Microbiology* 67, 153-155.
- Kumar, R., Verma, A.K., Kumar, A., Srivastava, M., Lal, H.P., 2012. Prevalence and antibiogram of *Campylobacter* infections in dogs of Mathura, India. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 434-440.

- Kuroki, S., Saida, T., Nukina, M., Yoshioka, M., Seino, J., 2001. Three patients with ophthalmoplegia associated with *Campylobacter jejuni*. *Pediatric Neurology* 25, 71-74.
- Kusumaningrum, H.D., Riboldi, G., Hazeleger, W.C., Beumer, R.R., 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology* 85, 227-236.
- Labarca, J.A., Sturgeon, J., Borenstein, L., Salem, N., Harvey, S. M., Lehnkering, E., Reporter, R., Mascola, L., 2002. *Campylobacter upsaliensis*: another pathogen for consideration in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 34, e59-e60.
- Lastovica, A.J., Goddard, E.A., Argent, A.C., 1997. Guillain-Barré Syndrome in South Africa associated with *Campylobacter jejuni* O: 41 strains. *The Journal of Infectious Diseases* 176, S139-S143.
- Lastovica, A.J., Allos, B.M., 2008. Clinical significance and related species other than *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. En I. Nachamkin, C.M. Szymanski y M.J. Blaser (Eds.). *Campylobacter* (3rd Edition). (pp. 123-149). Washington D.C.: ASM Press.
- Lawes, J.R., Vidal, A., Clifton-Hadley, F.A., Sayers, R., Rodgers, J., Snow, L., Evans, S.J., Powell, L.F., 2012. Investigation of prevalence and risk factors for *Campylobacter* in broiler flocks at slaughter: results from a UK survey. *Epidemiology and Infection*, 1-13.
- Lawson, A.J., On, S.L., Logan, J.M., Stanley, 2001. *Campylobacter hominis* sp. nov., from the human gastrointestinal tract. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51, 651-660.
- Lee, L.H., Burg, E., Baqar, S., Bourgeois, A.L., Burr, D.H., Ewing, C.P., Trust, T.J., Guerry, P., 1999. Evaluation of a truncated recombinant flagellin subunit vaccine against *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity* 67, 5799-5805.
- Lee, M.K., Billington, S.J., Joens, L.A., 2004. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolates from food and companion animals. *Foodborne Pathogens and Disease* 1, 223-230.
- Lehtola, M.J., Pitkanen, T., Miebach, L., Miettinen, I.T., 2006. Survival of *Campylobacter jejuni* in potable water biofilms: a comparative study with different detection methods. *Water Science and Technology* 54, 57-61.
- Lehtopolku, M., Nakari, U.M., Kotilainen, P., Huovinen, P., Siitonen, A., Hakanen, A.J., 2010. Antimicrobial susceptibilities of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* and *C. coli* strains: in vitro activities of 20 antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54, 1232-1236.
- Lenz, J., Joffe, D., Kauffman, M., Zhang, Y., LeJeune, J., 2009. Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. *The Canadian Veterinary Journal* 50, 637-643.
- Leonard, E.K., Pearl, D.L., Janecko, N., Weese, J.S., Reid-Smith, R.J., 2011. Factors related to *Campylobacter* spp. carriage in client-owned dogs visiting veterinary clinics in a region of Ontario, Canada. *Epidemiology and Infection* 139, 1531-1541.
- Levin, R.E., 2007. *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food Biotechnology* 21, 271-347.
- Levy, A.J., 1946. A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio. *The Journal of Infectious Diseases* 18, 243-258.
- Lienau, J.A., Ellerbroek, L., Klein, G., 2007. Tracing flock-related *Campylobacter* clones from broiler farms through slaughter to retail products by pulse-field gel electrophoresis. *Journal of Food Protection* 70, 536-542.
- Lillehaug, A., Bergsjø, B., Schau, J., Bruheim, T., Vikoren, T., Handeland, K., 2005. *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Verocytotoxic *Escherichia coli*, and antibiotic resistance in indicator organisms in wild cervids. *Acta Veterinaria Scandinavica* 46, 23-32.
- Lin, J., 2009. Novel approaches for *Campylobacter* control in poultry. *Foodborne Pathogens and Disease* 6, 755-765.

- Lindblom, G.B., Sjögren, E., Kaijser, B., 1986. Natural campylobacter colonization in chickens raised under different environmental conditions. *Journal of Hygiene (London)* 96, 385-391.
- Lindblom, G., Sjögren, E., Hansson-Westerberg, J., Kaijser, B., 1995. *Campylobacter upsaliensis*, *C. sputorum sputorum* and *C. concisus* as common causes of diarrhoea in Swedish children. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 27, 187-188.
- Line, J.E., Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Levchuk, V.P., Svetoch, O.E., Seal, B.S., Siragusa, G.R., 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, 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. *Research in Microbiology* 147, 707-718.
- Linton, D., Lawson, A.J., Owen, R.J., Stanley, J., 1997. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 2568-2572.
- Lior, H., Woodward, D.L., Edgar, J.A., Laroche, L.J., Gill, P., 1982. Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *Journal of Clinical Microbiology* 15, 761-768.
- Loc Carrillo, C., Atterbury, R.J., El-Shibiny, A., Connerton, P.L., Dillon, E., Scott, A., Connerton, I.F., 2005. Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 6554-6563.
- Lopez, C.M., Giacoboni, G., Agostini, A., Cornero, F.J., Tellechea, D.M., Trinidad, J.J., 2002. Thermotolerant Campylobacters in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 55, 193-200.
- Loretz, M., Stephan, R., Zweifel, C., 2010. Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: a literature survey. *Food Control* 21, 791-804.
- Louwen, R., Heikema, A., Van Belkum, A., Ott, A., Gilbert, M., Ang, W., Endtz, H.P., Bergman, M.P., Nieuwenhuis, E.E., 2008. The sialylated lipooligosaccharide outer core in *Campylobacter jejuni* is an important determinant for epithelial cell invasion. *Infection and Immunity* 76, 4431-4438.
- Luangtongkum, T., Morishita, T.Y., El-Tayeb, A.B., Ison, A.J., Zhang, Q., 2007. Comparison of antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* spp. by the agar dilution and the agar disk diffusion methods. *Journal of Clinical Microbiology* 45, 590-594.
- Lübeck, P.S., Cook, N., Wagner, M., Fach, P., Hoorfar, J., 2003. Toward an international standard for PCR-based detection of food-borne thermotolerant campylobacters: validation in a multicenter collaborative trial. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5670-5672.
- Luber, P., Wagner, J., Hahn, H., Bartelt, E., 2003. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2011-2002 from Poultry and Humans in Berlin, Germany. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 47, 3825-3830.
- Luber, P., Brynstad, S., Topsch, D., Scherer, K., Bartelt, E., 2006. Quantification of campylobacter species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 66-70.
- Luning, P.A., Bango, L., Kussaga, J., Rovira, J., Marcelis, W.J., 2008. Comprehensive analysis and differentiated assessment of food safety control systems: a diagnostic instrument. *Trends in Food Science and Technology* 19, 522-534.
- Lyngstad, T.M., Jonsson, M.E., Hofshagen, M., Heier, B.T., 2008. Risk factors associated with the presence of *Campylobacter* species in Norwegian broiler flocks. *Poultry Science* 87, 1987-1994.
- Macartney, L., Al-Mashar, R.R., Taylor, D.J., McCandlish, I.A., 1988. Experimental infection of dogs with *Campylobacter jejuni*. *Veterinary Record* 122, 245-249.

- MacCallum, A., Haddock, G., Everest, P.H., 2005a. *Campylobacter jejuni* activates mitogen-activated protein kinases in Caco-2 cell monolayers and in vitro infected primary human colonic tissue. *Microbiology* 151, 2765-2772.
- MacCallum, A., Hardy, S.P., Everest, P.H., 2005b. *Campylobacter jejuni* inhibits the absorptive transport functions of Caco-2 cells and disrupts cellular tight junctions. *Microbiology* 151, 2451-2458.
- MAGRAMA, 2013. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. El Sector de la carne de aves en cifras. Principales indicadores económicos en 2012. <http://www.magrama.gob.es/es/>
- Malher, X., Simon, M., Charnay, V., Des Déserts, R.D., Lehébel, A., Belloc, C., 2011. Factors associated with carcass contamination by *Campylobacter* at slaughterhouse in cecal-carrier broilers. *International Journal of Food Microbiology* 150, 8-13.
- Mandrell, R.E., Harden, L.A., Bates, A., Miller, W.G., Haddon, W.F., Fagerquist, C.K., 2005. Speciation of *Campylobacter coli*, *C. jejuni*, *C. helveticus*, *C. lari*, *C. sputorum*, and *C. upsaliensis* by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 6292-6307.
- Mangen M.J.J., Havelaar A.H., Bernsen R.A.J.A.M., van Koningsveld R., de Wit G.A., 2005. The costs of human *Campylobacter* infections and sequelae in the Netherlands: a DALY and cost of illness approach. *Acta Agriculturae Scandinavica* 2, 35-51.
- Manning, G., Dowson, C.G., Bagnall, M.C., Ahmed, I.H., West, M., Newell, D.G., 2003. Multilocus sequence typing for comparison of veterinary and human isolates of *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 6370-6379.
- MARM, 2010. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Medio Marino de España. <http://www.magrama.gob.es/es/>
- Marshall, S.M., Melito, P.L., Woodward, D.L., Johnson, W.M., Rodgers, F.G., Mulvey, M.R., 1999. Rapid identification of *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter* isolates by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the 16S rRNA gene. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 4158-4160.
- Martella, V., Lorusso, E., Decaro, N., Elia, G., Radogna, A., D'Abramo, M., Desario, C., Cavalli, A., Corrente, M., Camero, M., Germinario, C.A., Banyai, K., Martino, B.D., Marsilio, F., Carmichael, L.E., Buonavoglia, C., 2008. Detection and molecular characterization of a canine norovirus. *Emerging Infectious Diseases* 14, 1306-1308.
- Martiny, D., Dediste, A., Debruyne, L., Vlaes, L., Haddou, N.B., Vandamme, P., Vandenberg, O., 2011. Accuracy of the API Campy system, the Vitek 2 Neisseria-Haemophilus card and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Campylobacter* and related organisms. *Clinical Microbiology and Infection* 17, 1001-1006.
- Mateo, E., Cárcamo, J., Urquijo, M., Perales, I., Fernández-Astorga, A., 2005. Evaluation of a PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail poultry products. *Research in Microbiology* 156, 568-574.
- Mavromati, J., Mavromati, E., Gjeta, Z., 2011. The effect of a macrolid antibiotic on the control of mycoplasmas and production efficiency in broilers. *Biotechnology in Animal Husbandry* 27, 721-731.
- McDermott, P.F., Bodeis, S.M., Aarestrup, F.M., Brown, S., Traczewski, M., Fedorka-Cray, P., Wallace, M., Critchley, I.A., Thornsberry, C., Graff, S., Flamm, R., Beyer, J., Shortridge, D., Piddock, L.J., Ricci, V., Johnson, M.M., Jones, R.N., Reller, B., Mirrett, S., Aldrobi, J., Rennie, R., Brosnikoff, C., Turnbull, L., Stein, G., Schooley, S., Hanson, R.A., Walker, R.D., 2004. Development of a standardized susceptibility test for *Campylobacter* with quality-control ranges for ciprofloxacin, doxycycline, erythromycin, gentamicin, and meropenem. *Microbial Drug Resistance* 10, 124-131.
- McDermott, P.F., Bodeis-Jones, S.M., Fritsche, T.R., Jones, R.N., Walker, R.D., and the *Campylobacter* Susceptibility Testing Group. 2005. Broth microdilution susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 6136-6138.

- 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. *Preventive Veterinary Medicine* 84, 261-276.
- McFadyean, J., Stockman, S., 1913. Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into Epizootic Abortion. III. Abortion in Sheep. London: HMSO.
- Mead, G.C., Scott, M.J., Humphrey, T.J., McAlpine, K., 1996. Observations on the control of *Campylobacter jejuni* infection of poultry by 'competitive exclusion'. *Avian Pathology* 25, 69-79.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V., 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 5, 607-625
- Medema, G.J., Schets, F.M., Van de Giessen, A.W., Havelaar, A.H., 1992. Lack of colonisation of 1 day old chicks by viable non-culturable *Campylobacter jejuni*. *Journal of Applied Bacteriology* 72, 512-516.
- Meerburg, B.G., Kijlstra, A., 2007. Role of rodents in transmission of *Salmonella* and *Campylobacter*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 2774-2781.
- Melero, B., Juntunen, P., Hänninen, M., Jaime, I., Rovira, J., 2012. Tracing *Campylobacter jejuni* strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates. *Food Microbiology* 32, 124-128.
- Mifflin, J., Templeton, J., More, S., 2001. An improved sampling strategy for the study of *Campylobacter* spp. in poultry flocks. *International Journal of Medical Microbiology* 291, 38.
- Mills, A., Phillips, C. A., 2003. *Campylobacter jejuni* and the human food chain: a possible source. *Nutrition and Food Science* 33, 197-202.
- Miller, G., Dunn, G.M., Reid, T.M., Ogden, I.D., Strachan, N.J., 2005. Does age acquired immunity confer selective protection to common serotypes of *Campylobacter jejuni*? *BMC Infectious Diseases* 5, 66.
- Miller, W.G., Parker, C.T., Heath, S., Lastovica, A.J., 2007. Identification of genomic differences between *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and *C. jejuni* subsp. *doylei* at the nap locus leads to the development of a *C. jejuni* subspeciation multiplex PCR method. *BMC Microbiology* 7, 11.
- Misawa, N., Kawashima, K., Kondo, F., 2001. Epidemiological survey of *Campylobacter upsaliensis* carried by dogs and cats in the South-Kyushu Area of Japan. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association* 54, 707-711.
- Miwa, N., Takegahara, Y., Terai, K., Kato, H., Takeuchi, T., 2003. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni*-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology* 84, 105-109.
- Mochizuki, M., Kawanishi, A., Sakamoto, H., Tashiro, S., Fujimoto, R., Ohwaki, M., 1993. A calicivirus isolated from a dog with fatal diarrhoea. *Veterinary Record* 132, 221-222.
- Moore, J.E., Gilpin, D., Crothers, E., Canney, A., Kaneko, A., Matsuda, M., 2002. Occurrence of *Campylobacter* spp. and *Cryptosporidium* spp. in Seagulls (*Larus* spp.) *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2, 111-114.
- Moore, J.E., Barton, M.D., Blair, I.S., Corcoran, D., Dooley, J.S.G., Fanning, S., Kempf, I., Lastovica, A.J., Lowery, C.J., Matsuda, M., McDowell, D.A., McMahon, A., Millar, B.C., Rao, J.R., Rooney, P.J., Seal, B.S., Snelling, W.J., Tolba, O., 2006. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes and Infection* 8, 1955-1966.
- Moriarty, E.M., Mackenzie, M.L., Karki, N., Sinton, L.W., 2011. Survival of *Escherichia coli*, *Enterococci*, and *Campylobacter* spp. in sheep feces on pastures. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 1797-1803.
- Mughini Gras, L., Smid, J.H., Wagenaar, J.A., Koene, M.G.J., Havelaar, H., Friesema, I.H.M., French, N.P., Flemming, C., Galson, J.D., Graziani, C., Busani, L., Van Pelt, W., 2013. Increased risk for *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. *Epidemiology and Infection*, doi:10.1017/S0950268813000356.

- Murphy, C., Carroll, C., Jordan, K.N., 2003. Induction of an adaptive tolerance response in the foodborne pathogen, *Campylobacter jejuni*. *FEMS Microbiology Letters* 223, 89-93.
- Murphy, C., Carroll, C., Jordan, K.N., 2006. Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. *Journal of Applied Microbiology* 100, 623-632.
- Myszewski, M.A., Stern, N.J., 1990. Influence of *Campylobacter jejuni* cecal colonization on immunoglobulin response in chickens. *Avian Diseases* 34, 588-594.
- Nachamkin, I., 2002. Chronic effects of *Campylobacter* infection. *Microbes and Infection* 4, 399-403.
- Nachamkin, I., Ung, H., Li, M., 2002. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. *Emerging Infectious Diseases* 8, 1501-1503.
- Nakari, U.M., Huovinen, E., Kuusi, M., Siitonen, A., 2010. Population-based surveillance study of *Campylobacter* infections in Finland. *Epidemiology and Infection* 138, 1712-1718.
- Näther, G., Alter, T., Martin, A., Ellerbroek, L., 2009. Analysis of risk factors for *Campylobacter* species infection in broilers flocks. *Poultry Science* 88, 1299-1305.
- NCCLS, 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, approved standard M31-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
- Neal, K.R., Slack, R.C.B., 1997. Diabetes mellitus, anti-secretory drugs and other risk factors for campylobacter gastro-enteritis in adults: a case-control study. *Epidemiology and Infection* 119, 307-311.
- Neill, S.D., Campbell, J.N., Greene, J.A., 1984. *Campylobacter* species in broiler chickens. *Avian Pathology* 13, 777-785.
- Neill, S., Campbell, J., O'Brien, J., 1985. Egg penetration by *Campylobacter jejuni*. *Avian Diseases* 14, 313-320.
- Neimann, J., Engberg, J., Molbak, K., Wegener, H.C., 2003. A case-control study of risk factors for sporadic campylobacter infections in Denmark. *Epidemiology and Infection* 130, 353-366.
- Nelson, J.M., Chiller, T.M., Powers, J.H., Angulo, F.J., 2007. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. *Clinical Infectious Diseases* 44, 977-980.
- Newell, D.G., 2001. The molecular epidemiology of campylobacters in poultry and poultry meat and use to develop intervention strategies. Final report FS3033. Food Standards Agency, London, United Kingdom.
- Newell D.G., Wagenaar, J.A., 2000. Poultry infections and their control at the farm level. En I. Nachamkin y M.J. Blaser (Eds.) *Campylobacter*, 2nd ed. (pp. 497-509). American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Newell, D. G., Shreeve, J.E., Toszeghy, M., Domingue, G., Bull, S., Humphrey, T., Mead, G., 2001. Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 2636-2640.
- Newell, D.G., Fearnley, C., 2003. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 4343-4351.
- Newell, D.G., Elvers, K.T., Dopfer, D., Hansson, I., Jones, P., James, S., Gittins, J., Stern, N.J., Davies, R., Connerton, I., Pearson, D., Salvat, G., Allen, V.M., 2011. Biosecurity-based interventions and strategies to reduce *Campylobacter* spp. on poultry farms. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 8605-8614.
- Ng, L.K., Kingombe, C.I.B., Yan, W., Taylor, D.E., Hiratsuka, K., Malik, N., Garcia, M.M., 1997. Specific detection and confirmation of *Campylobacter jejuni* by DNA hybridization and PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 4558-4563.

- Nguyen, V.T., Turner, M.S., Dykes, G.A., 2010. Effect of temperature and contact time on *Campylobacter jejuni* attachment to, and probability of detachment from, stainless steel. *Journal of Food Protection* 73, 832-838.
- Nicholson, M.A., Patton, C.M., 1993. Application of Lior biotyping by use of genetically identified *Campylobacter* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 31, 3348-3350.
- Nobuhiro, M.D., Hartung, H.P., 2012. Guillain-Barré Syndrome. *The New England Journal of Medicine* 366, 2294-2304.
- Nordic Committee on Food Analysis, 2007. Thermotolerant *Campylobacter*. Detection, semi-quantitative and quantitative determination in foods and drinking water, Method No. 119, 3. Ed. Nordic Committee on food Analysis.
- Norström, M., Johnsen, G., Hofshagen, M., Tharaldsen, H., Kruse, H., 2007. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* from broilers and broiler house environments in Norway. *Journal of Food Protection* 70, 736-737.
- Northcutt, J.K., Buhr, R.J., Berrang, M.E., Fletcher, D.L., 2003. Effects of replacement finisher feed and length of feed withdrawal on broiler carcass yield and bacteria recovery. *Poultry Science* 82, 1820-1824.
- Notario, R., Borda, N., Gambandé, T., Bermejo, J., Ponessa, A., Toledo, V., 2011. Cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a quinolonas aisladas de humanos, gallinas y pollos. *Medicina (Buenos Aires)* 71, 331-335.
- O'Leary, A.M., Whyte, P., Madden, R.H., Cormican, M., Moore, J.E., Mc Namara, E., Mc Gill, K., Kelly, L., Cowley, D., Moran, L., Scates, P., Collins, J.D., Carroll, C.V., 2011. Pulsed field gel electrophoresis typing of human and retail foodstuff *Campylobacter*s: an Irish perspective. *Food Microbiology* 28, 426-433.
- Odumeru, J.A., Mitchell, S.J., Alves, D.M., Lynch, J.A., Yee, A.J., Wang, S.L., Styliadis, S., Farber, J.M., 1997. Assessment of microbiological quality of ready-to-use vegetables for health-care food services. *Journal of Food Protection* 60, 954-960.
- OIE, 2008. Manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre animales terrestres 2008. *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*. Capítulo 2.9.3.
- OIE, 2013. Organización Mundial de Sanidad Animal. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Zoonoses
- Olah, P.A., Sherwood, J.S., Elijah, L.M., Dockter, M.R., Doetkott, C., Miller, Z., Logue, C.M., 2004. Comparison of antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Campylobacter* isolated from turkeys in the Midwest USA. *Food Microbiology* 21, 779-789.
- Olowokure, B., Hawker, J., Weinberg, J., Gill, N., Sufi, F., 1999. Deprivation and hospital admission for infectious intestinal diseases. *Lancet* 353 (9155), 807-808.
- Olson, P., Sandstedt, K., 1987. *Campylobacter* in the dog: a clinical and experimental study. *Veterinary Record* 121, 99-101.
- Op Den Winkel, M., Gülberg, V., Weiss, M., Ebeling, F., Gerbes, A.L., Samtleben, W., 2010. Acute postinfectious glomerulonephritis associated with *Campylobacter jejuni* enteritis - a case report and review of the literature on *C. jejuni*'s potential to trigger immunologically mediated renal disease. *Clinical Nephrology* 74, 474-479.
- Osaili, T.M., Alaboudi, A.R., Al-Akhras, R.R., 2012. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. in live and dressed chicken in Jordan. *Foodborne Pathogens and Disease* 9, 54-58.
- Oyarzabal, O.A., Hawk, C., Bilgili, S.F., Warf, C.C., Kemp, G.K., 2004. Effects of postchill application of acidified sodium chlorite to control *Campylobacter* spp. and *Escherichia coli* on commercial broiler carcasses. *Journal of Food Protection* 67, 2288-2291.
- Padungton, P., Kaneene, J.B., 2003. *Campylobacter* spp. in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *Journal of Veterinary Medical Science* 65, 161-170.

- Park, S.F., 2002. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 74, 177-188.
- Parsons, B.N., Porter, C.J., Ryvar, R., Stavisky, J., Williams, N.J., Pinchbeck, G.L., Birtles, R.J., Christley, R.M., German, A.J., Radford, A.D., Hart, C. A., Gaskell, R.M., Dawson, S., 2009. Prevalence of *Campylobacter* spp. in a cross-sectional study of dogs attending veterinary practices in the UK and risk indicators associated with shedding. *The Veterinary Journal* 184, 66-70.
- Parsons, B.N., Porter, C.J., Ryvar, R., Stavisky, J., Williams, N.J., Pinchbeck, G.L., Birtles, R.J., Christley, R.M., German, A.J., Radford, A.D., Hart, C.A., Gaskell, R.M., Dawson, S., 2010. Prevalence of *Campylobacter* spp. in a cross-sectional study of dogs attending veterinary practices in the UK and risk indicators associated with shedding. *The Veterinary Journal* 184, 66-70.
- Parsons, B.N., Williams, N.J., Pinchbeck, G.L., Christley, R.M., Hart, C.A., Gaskell, R.M., Dawson, S., 2011. Prevalence and shedding patterns of *Campylobacter* spp. in longitudinal studies of kennelled dogs. *The Veterinary Journal* 190, 249-254.
- Patton, C.M., Shaffer, N., Edmonds, P., Barrett, T.J., Lambert, M.A., Baker, C., Perlman, D.M., Brenner, D.J., 1989. Human disease associated with "*Campylobacter upsaliensis*" (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 27, 66 -73.
- Payot, S., Dridi, S., Laroche, M., Federighi, M., Magras, C., 2004. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from fattening pigs in France. *Veterinary Microbiology* 101, 91-99.
- Pearson, A. D., Greenwood, M.H., Feltham, R.K., Healing, T.D., Donaldson, J., Jones, D.M., Colwell, R.R., 1996. Microbial ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom chicken supply chain: intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 4614-4620.
- Pearson, B.M., Pin, C., Wright, J., l'Anson, K., Humprey, T., Wells, J.M., 2003. Comparative genome analysis of *Campylobacter jejuni* using whole genome DNA microarrays. *FEBS Letters* 554, 224-230.
- Pei, Z., Blaser, M.J., 1993. PEB1, the major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in Gram-negative nutrient transport systems. *The Journal of Biological Chemistry* 268, 18717-18725.
- Pei, Z., Burucoa, C., Grignon, B., Baqar, S., Huang, X.Z., Kopecko, D.J., Bourgeois, A.L., Fauchere, J.L., Blaser, M.J., 1998. Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. *Infection and Immunity* 66, 938-943.
- Penner, J.L., Hennessy, J.N., 1980. Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* on the basis of heat-stable antigens. *Journal of Clinical Microbiology* 12, 732-737.
- Pérez-Boto, D., García-Peña, F.J., Abad-Moreno, J.C., Hurtado-Pizarro, M.D., Pérez-Cobo, I., Echeita, M.A., 2010. Drinking water as the source of *Campylobacter coli* infection in grandparent havey breeders. *Avian Pathology* 39, 483-487.
- Petersen, L., Nielsen, E.M., On, S.L., 2001. Serotype and genotype diversity and hatchery transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial poultry flocks. *Veterinary Microbiology* 82, 141-154.
- Peterson, M. C. 2003. *Campylobacter jejuni* enteritis associated with consumption of raw milk. *Journal of Environmental Health* 65, 20-21.
- Peyrat, M.B., Soumet, C., Maris, P., Sanders, P., 2008a. Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses. *Veterinary Microbiology* 128, 313-326.
- Peyrat, M.B., Soumet, C., Maris, P., Sanders, P., 2008b. Recovery of *Campylobacter jejuni* from surfaces of poultry slaughterhouses after cleaning and disinfection procedures: analysis of a potential source of carcass contamination. *International Journal of Food Microbiology* 124, 188-194.

- Pezzotti, G., Serafin, A., Luzzi, I., Mioni, R., Milan, M., Perin, R., 2003. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *International Journal of Food Microbiology* 82, 281-287.
- Pinochet, V.L., Smith, S.P., Lazo, Q.J., Abalos, P.P., 1988. Estudio preliminar de la enteropatogenicidad de *Campylobacter coli* en cerditos lactantes. *Avances en ciencias veterinarias* 3, 106-107.
- Polpakdee, A., Angkititrukul, S., Suksawat, F., Sparagano, O., Kanistanon, K., 2012. Epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella* sp. isolated from dogs and cats in Northeastern Thailand. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11, 618-621.
- Poly, F., Guerry, P., 2008. Pathogenesis of *Campylobacter*. *Current Opinion in Gastroenterology* 24, 27-31.
- Poropatch, K.O., Walker, C.L.F., Black, R.E., 2010. Quantifying the association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré syndrome: a systematic review. *Journal of Health, Population and Nutrition* 28, 545-552.
- Posch, J., Feierl, G., Wuest, G., Sixl, W., Schmidt, Haas, D.U., Reinthaler, F.F., Marth, E., 2006. Transmission of *Campylobacter* spp. in a poultry slaughterhouse and genetic characterisation of the isolates by pulsed-field gel electrophoresis. *British Poultry Science* 47, 286-293.
- Potter, R.C., Kaneene, J.B., Hall, W.N., 2003. Risk factors for sporadic *Campylobacter jejuni* infections in rural Michigan: a prospective case-control study. *American Journal of Public Health* 93, 2118-2123.
- Potz, N.A.C., Mushtaq, S., Johnson, A.P., Henwood, C.J., Walker, R.A., Varey, E., Warner, M., James, D., Livermore, D.M., 2004. Reliability of routine disc susceptibility testing by the British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, 729-738.
- Powell, L.F., Lawes, J.R., Clifton-Hadley, F.A., Rodgers, J., Harris, K., Evans, S.J., Vidal, A., 2012. The prevalence of *Campylobacter* spp. in broiler flocks and on broiler carcasses and the risk associated with highly contaminated carcasses. *Epidemiology and Infection* 16, 1-14.
- Price, L.B., Lackey, L.G., Vailes, R., Silbergeld, E., 2007. The persistence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* in poultry production. *Environmental Health Perspectives* 115, 1035-1039.
- Purdy, D., Buswell, C.M., Hodgson, A.E., 2000. Characterisation of cytolethal distending toxin (CDT) mutants of *Campylobacter jejuni*. *Journal of Medical Microbiology* 49, 473-479.
- Rahimi, E., Chakeri, A., Esmizadeh, K., 2012. Prevalence of *Campylobacter* species in fecal samples from cats and dogs in Iran. *Slovenian Veterinary Research* 49, 117-122.
- Raji, M.A., Adekeye, J.O., Kwaga, J.K.P., Bale, J.O.O., Bioserogroups of *Campylobacter* species isolated from sheep in Kaduna State, Nigeria. *Small Ruminant Research* 37, 215-221.
- Ramabu, S.S., Boxall, N.S., Madie, P., Fenwick, S.G., 2004. Some potential sources for transmission of *Campylobacter jejuni* to broiler chickens. *Letters in Applied Microbiology* 39, 252-256.
- Reeser, R.J., Medler, R.T., Billington, S.J., Jost, B.H., Joens, L.A., 2007. Characterization of *Campylobacter jejuni* biofilms under defined growth conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 1908-1913.
- Refrégier-Petton, J., Rose, N., Denis, M., Salvat, G., 2001. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Preventive Veterinary Medicine* 50, 89-100.
- Reich, F., Atanassova, V., Haunhorst, E., Klein, G., 2008. The effect of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. *International Journal of Food Microbiology* 127, 116-120.
- Ribot, E.M., Fitzgerald, C., Kubota, K., Swaminathan, B., Barrett, T.J., 2001. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 1889-1894.
- Rice, B.E., Rollins, D.M., Mallinson, E.T., Carr, L., Joseph, S.W., 1997. *Campylobacter jejuni* in broiler chickens: colonization and humoral immunity following oral vaccination and experimental infection. *Vaccine* 15, 1922-1932.

- Ridley, A.M., Morris, V.K., Cawthraw, S.A., Ellis-Iversen, J., Harris, J.A., Kennedy, E.M., Newell, D.G., Allen, V.M., 2011. Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic campylobacters on one conventional broiler chicken farm. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 98-107.
- Riedel, C.T., Brndsted, L., Rosenquist, H., Haxgart, S.N., Christensen, B.B., 2009. Chemical decontamination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin and meat. *Journal of Food Protection* 72, 1173-1180.
- Ringoir, D.D., Korolik, V., 2002. Colonisation phenotype and colonization differences in *Campylobacter jejuni* strains in chickens before and after passage in vivo. *Veterinary Microbiology* 92, 225-235.
- Rivera-Amill, V., Kim, B.J., Seshu, J., Konkell, M.E., 2001. Secretion of the virulence-associated *Campylobacter* invasion antigens from *Campylobacter jejuni* requires a stimulatory signal. *The Journal of Infectious Diseases* 183, 1607-1616.
- Robinson, D.A., 1981. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *British Medical Journal* 282, 1584.
- Robinson, R.A., Pugh, R.N., 2002. Dogs, zoonoses and immunosuppression. *Journal of the Royal Society of Medicine* 122, 95-98.
- Rodrigues, L.C., Cowden, J.M., Wheeler, J.G., Sethi, D., Wall, P.G., Cumberland, P., Tompkins, D.S., Hudson, M.J., Roberts, J.A., Roderick, P.J., 2001. The study of infectious intestinal disease in England: risk factors for cases of infectious intestinal disease with *Campylobacter jejuni* infection. *Epidemiology and Infection* 127, 185-193.
- Roop II, R.M., Smibert, R.M., Johnson, J.L., Krieg, N.R., 1984. Differential characteristics of catalase-positive campylobacters correlated with DNA homology groups. *Canadian Journal of Microbiology* 30, 938-951.
- Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Sommer, H.M., Norrung, B., Christensen, B.B., 2003. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *International Journal of Food Microbiology* 83, 87-103.
- Rosenquist, H., Sommer, H.M., Nielsen, N.L., Christensen, B.B., 2006. The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *International Journal of Food Microbiology* 108, 226-232.
- Rosenquist, H., Bengtsson, A., Hansen, T.B., 2007. A collaborative study on a Nordic standard protocol for detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* in food (NMKL 119, 3. Ed., 2007). *International Journal of Food Microbiology* 118, 201-213.
- Rossi, M., Hanninen, M.L., Revez, J., Hannula, M., Zanoni, R.G., 2008. Occurrence and species level diagnostics of *Campylobacter* spp., enteric *Helicobacter* spp. and *Anaerobiospirillum* spp. in healthy and diarrheic dogs and cats. *Veterinary Microbiology* 129, 304-314.
- Rossi, M., Debruyne, L., Zanoni, R.G., Manfreda, G., Revez, J., Vandamme, P., 2009. *Campylobacter avium* sp. nov., a hippurate-positive species isolated from poultry. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59, 2364-2369.
- Rothrock, M. J., Cook, J.K.L., Warren, J.G., Sistani, K., 2008. The effect of alum addition on microbial communities in poultry litter. *Poultry Science* 87, 1493-1503.
- Russa, A.D., Bouma, A., Vernooij, J.C.M., Jacobs-Reitsma, W., Stegeman, J.A., 2005. No association between partial depopulation and *Campylobacter* spp. colonization of Dutch broiler flocks. *Letters in Applied Microbiology* 41, 280-285.
- Russell, S.M., 2003. The effect of airsacculitis on bird weights, uniformity, fecal contamination, processing errors, and populations of *Campylobacter* spp. and *Escherichia coli*. *Poultry Science* 82, 1326-1331.
- Russell, R.G., O'Donnoghue, M., Blake, D.C., Jr., Zulty, J., DeTolla, L.J., 1993. Early colonic damage and invasion of *Campylobacter jejuni* in experimentally challenged infant *Macaca mulatta*. *The Journal of Infectious Diseases* 168, 210-215.

- Saeed, A.M., Harris, N.V., DiGiacomo, R.F., 1993. The role of exposure to animals in the etiology of *Campylobacter jejuni/coli* enteritis. *American Journal of Epidemiology* 137, 108-114.
- Sáenz, Y., Zarazaga, M., Lantero, M., Gastañares, M.J., Baquero, F., Torres, C., 2000. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 267-271.
- Sahanukool, P., Chaveerach, P., Noppon, B., 2012. Antimicrobial susceptibility test and prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from client-owned dogs visiting veterinary clinics in Khon Kaen province. *KKU Veterinary Journal* 22, 174-184.
- Sahin, O., Zhang, Q., Meitzler, J.C., Harr, B.S., Morishita, T.Y., Mohan, R., 2001. Prevalence, antigenic specificity, and bactericidal activity of poultry anti-*Campylobacter* maternal antibodies. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 3951-3957.
- Sahin, O., Morishita, T.Y., Zhang, Q., 2002. *Campylobacter* colonization in poultry: sources of infection and modes of transmission. *Animal Health Research Reviews* 3, 95-105.
- Sahin, O., Kobalka, P., Zhang, Q., 2003a. Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. *Journal of Applied Microbiology* 95, 1070-1079.
- Sahin, O., Luo, N., Huang, S., Zhang, Q., 2003b. Effect of *Campylobacter*-specific maternal antibodies on *Campylobacter jejuni* colonization in young chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5372-5379.
- Sails, A.D., Fox, A.J., Bolton, F.J., Wareing, D.R., Greenway, D.L., Borrow, R., 2001. Development of a PCR ELISA assay for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Molecular and Cellular Probes* 15, 291-300.
- Sakran, W., Raz, R., Levi, Y., Colodner, R., Koren, A., 1999. *Campylobacter* bacteremia and pneumonia in two splenectomized patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 18, 496-498.
- Saleha, A.A., 2014. Epidemiological study on the colonization of chickens with *Campylobacter* in broiler farms in Malaysia: possible risk and management factors. *International Journal of Poultry Science* 3, 129-134.
- Salihu, M.D., Magaji, A.A., Abdulkadir, J.U., Kolawale, A., 2010. Survey of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in north-western Nigeria. *Veterinaria Italiana* 46, 425-430.
- Sancak, A.A., Rutgers, H.C., Hart, C.A., Batt, R.M., 2004. Prevalence of enteropathic *Escherichia coli* in dogs with acute and chronic diarrhoea. *Veterinary Record* 154, 101-106.
- Sandberg, M., B. Bergsjø, M. Hofshagen, E. Skjerve, H. Kruse, 2002. Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Preventive Veterinary Medicine* 55, 241-253.
- Sandberg, M., Hofshagen, M., Ostensvik, O., Skjerve, E., Innocent, G., 2005. Survival of *Campylobacter* on frozen broiler carcasses as a function of time. *Journal of Food Protection*, 68, 1600-1605.
- Sandstedt, K., Ursing, J., Walder, M., 1983. Thermotolerant *Campylobacter* with no or weak catalase activity isolated from dogs. *Current Microbiology* 84, 209-213.
- Sandstedt, K., Ursing, J., 1986. *Campylobacter upsaliensis*, a new species, formerly the CNW group. XIV int Congr Microbiology, Manchester, UK, Sept 37, 7-13.
- Sasaki, Y., Tsujiyama, Y., Tanaka, H., Yoshida, S., Goshima, T., Oshima, K., Katayama, S., Yamada, Y., 2011. Risk factors for *Campylobacter* colonization in broiler flocks in Japan. *Zoonoses Public Health* 58, 350-356.
- Sasaki, Y., Maruyama, N., Zou, B., Haruna, M., Kusukawa, M., Murakami, M., Asai, T., Tsujiyama, Y., Yamada, Y., 2013. *Campylobacter* cross-contamination of chicken products at an abattoir. *Zoonoses and Public Health* 60, 134-140.
- Sauer, S., Kliem, M., 2010. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 8, 74-82.

- Savill, M.G., Hudson, J.A., Ball, A., Klena, J.D., Scholes, P., Whyte, R.J., McCormick, R.E., Jankovic, D., 2001. Enumeration of *Campylobacter* in New Zealand recreational and drinking waters. *Journal of Applied Microbiology* 91, 38-46.
- Schönberg-Norio, D., Takkinen, J., Hänninen, M.L., Katila, M.L., Kaukoranta, S.S., Mattila, L., Rautelin, H., 2004. Swimming and *Campylobacter* infections. *Emerging Infectious Diseases* 10, 1474-1477.
- Scott, A.E., Timms, A.R., Connerton, P.L., Loc Carrillo, C., Adzfa Radzum, K., Connerton, I.F., 2007. Genome dynamics of *Campylobacter jejuni* in response to bacteriophage predation. *PLoS Pathogens* 3, e119.
- Sears, A., Baker, M.G., Wilson, N., Marshall, J., Muellner, P., Campbell, D.M., Lake, R.J., French, N.P., 2011. Marked campylobacteriosis decline after interventions aimed at poultry, New Zealand. *Emerging Infectious Diseases* 17, 1007-1015.
- Sebald, M., Véron, M., 1963. Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Annales de l'Institut Pasteur* 105, 897-910.
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P.E., Rolain, J.M., Raoult, D., 2009. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases* 49, 543-551.
- Shane, S. M., Gifford, D.H., Yogasundram, K., 1986. *Campylobacter jejuni* contamination of eggs. *Veterinary Research Communications* 10, 487-492.
- Shanker, S., Lee, A., Sorrell, T.C., 1986. *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. *Journal of Hygiene (London)* 96, 153-159.
- Shanker, S., Lee, A., Sorrell, T.C., 1990. Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. *Epidemiology and Infection* 104, 101-110.
- Sheppard, S.K., Dallas, J.F., Strachan, N.J.C., MacRae, M., McCarthy, N.D., Wilson, D.J., Gormley, F.J., Falush, D., Ogden, I.D., Maiden, M.C.J., Forbes, K.J., 2009. *Campylobacter* genotyping to determine the source of human infection. *Clinical Infectious Diseases* 48, 1072-1078.
- Sheppard, S.K., Colles, F., Richardson, J., Cody, A.J., Elson, R., Lawson, A., Brick, G., Meldrum, R., Little, C.L., Owen, R.J., Maiden, M.C.J., McCarthy, N.D., 2010. Host Association of *Campylobacter* Genotypes Transcends Geographic Variation. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 5269-5277.
- Shreeve, J.E., Toszeghy, M., Pattison, M., Newell, D.G., 2000. Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multi-pen broiler house. *Avian Diseases* 44, 983-988.
- Shreeve, J. E., Toszeghy, M., Ridley, A., Newell, D.G., 2002. The carryover of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks. *Avian Diseases* 46, 378-385.
- Siegesmund, A.M., Konkkel, M.E., Klena, J.D., Mixer, P.F., 2004. *Campylobacter jejuni* infection of differentiated THP-1 macrophages results in interleukin 1 β release and caspase-1-independent apoptosis. *Microbiology* 150, 561-569.
- Siemer, B.L., Harrington, C. S., Nielsen, E. M., Borck, B., Nielsen, N.L., Engberg, J., On, S.L.W., 2004. Genetic relatedness among *Campylobacter jejuni* serotyped isolates of diverse origin as determined by numerical analysis of amplified fragment length polymorphism (AFLP) profiles. *Journal of Applied Microbiology* 96, 795-802.
- Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P.A., Teixeira, P., 2011. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in Microbiology* 2, Art. 200.
- Simmons, N.A., Gibbs, F.J., 1979. *Campylobacter* spp. in oven-ready poultry. *Journal of Infection* 1, 159-162.
- Simonsen, J., Frisch, M., Ethelberg, S., 2008. Socioeconomic risk factors for bacterial gastrointestinal infections. *Epidemiology* 19, 282-290.

- Sippy, R., Sandoval-Green, C.M.J., Sahin, O., Plummer, P., Fairbanks, W.S., Zhang, Q., Blanchong, J.A., 2012. Occurrence and molecular analysis of *Campylobacter* in wildlife on livestock farms. *Veterinary Microbiology* 157, 369-375.
- Skanseng, B., Kaldhusdal, M., Moen, B., Gjevre, A.G., Johannessen, G.S., Sekelja, M., Trosvik, P., Rudi, K., 2010. Prevention of intestinal *Campylobacter jejuni* colonization in broilers by combinations of infeed organic acids. *Journal of Applied Microbiology* 109, 1265-1273.
- Skirrow, M.B., 1977. *Campylobacter* enteritis: a 'new' disease. *British Medical Journal* 2, 9-11.
- Skirrow, M.B., 1981. *Campylobacter* enteritis in dogs and cats: a "new" zoonosis. *Veterinary Research Communication* 5, 13-19.
- Skirrow, M.B., 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. *Journal of Comparative Pathology* 111, 113-149.
- Skirrow, M.B., Blaser, M.J., 2000. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. En I. Nachamkin y M.J. Blaser (Eds.). *Campylobacter* (2nd Edition). (pp. 69-88). Washington, DC.: ASM Press.
- Skjot-Rasmussen, L., Ethelberg, S., Emborg, H.D., Agerso, Y., Larsen, L.S., Nordentoft, S., Olsen, S.S., Ejlersen, T., Holt, H., Nielsen, E.M., Hammerum, A.M., 2009. Trends in occurrence of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from broiler chickens, broiler chicken meat, and human domestically acquired cases and travel associated cases in Denmark. *International Journal of Food Microbiology* 131, 277-279.
- Slader, J., Domingue, G., Jorgensen, F., McAlpine, K., Owen, R.J., Bolton, F.J., Humphrey, T.J., 2002. Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 713-719.
- Slavik, M.F., Kim, J.W., Pharr, M.D., Raben, D.P., Tsai, S., Lobsinger, C.M., 1994. Effect of trisodium phosphate on *Campylobacter* attached to post-chill chicken carcasses. *Journal of Food Protection* 57, 324-326.
- Smibert, R.M., 1974. *Campylobacter*. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th edn. Baltimore: Williams and Wilkins, 207-1.
- Smith, J.L., Fratamico, P.M., 2010. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *Journal of Food Protection* 73, 1141-1152.
- Smith, T., 1919. The etiological relation of *Spirilla* (*V. foetus*) to bovine abortion. *The Journal of Experimental Medicine* 30, 313-323.
- Smith, T., Taylor, M.S., 1919. Some morphological and biological characters of *Spirilla* (*Vibrio foetus* n.sp.) associated with disease of fetal membranes in cattle. *The Journal of Experimental Medicine* 30, 299-311.
- Smith, R.D., Coast, J., Millar, M.R., Wilton, P., Karcher, A.M., 2001. Interventions against antimicrobial resistance: a review of the literature and exploration of modelling cost-effectiveness. *Global Forum for Health Research*, 6.
- Snelling, W.J., McKenna, J.P., Lecky, D.M., Dooley, J.S.G., 2005. Survival of *Campylobacter* from intensively reared poultry in water-borne protozoa. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 5560-5571.
- Sommerlad, S.M., Hendrixson, D.R., 2007. Analysis of the roles of FlgP and FlgQ in flagellar motility of *Campylobacter jejuni*. *Journal of Bacteriology* 189, 179-186.
- Son, I., Englen, M.D., Berrang, M.E., Fedorka-Cray, P.J., Harrison, M.A., 2007. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. *International Journal of Food Microbiology* 113, 16-22.
- Song, Y.C., Jin, S., Louie, H., Ng, D., Lau, R., Zhang, Y., Weerasekera, R., AlRashid, S., Ward, L.A., Der, S.D., Chan, V.L., 2004. FlaC, a protein of *Campylobacter jejuni* TGH9011 (ATCC43431) secreted through the flagellar apparatus, binds epithelial cells and influences cell invasion. *Molecular Microbiology* 53, 541-553.

- Stackebrandt, E., Goebel, B.M., 1994. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 44, 846-849.
- Stanley, J., Jones, C., Burnens, A., Owen, R.J., 1994. Distinct genotypes of human and canine isolates of *Campylobacter upsaliensis* determined by 16S rRNA gene typing and plasmid profiling. *Journal of Clinical Microbiology* 32, 1788-1794
- Stavisky, J., Radford, A.D., Gaskell, R., Dawson, S., German, A., Parsons, B., Clegg, S., Newman, J., Pinchbeck, G., 2011. A case-control study of pathogen and lifestyle risk factors for diarrhea in dogs. *Preventive Veterinary Medicine* 99 (2-4), 185-192.
- Stegenga, T.H., Terpstra, J.I., 1949. Over *Vibrio foetus* infecties bij het rund en enzootische steriliteit. *Tijdschr Diergeneesk* 74, 293-296.
- Stehr-Green, J.K., Schantz, P.M., 1987. The impact of zoonotic diseases transmitted by pets on human health and the economy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17, 1-15.
- Steinhauserova, I., Fojtikova, K., Klimes, J., 2000. The incidence and PCR detection of *Campylobacter upsaliensis* in dogs and cats. *Letters in Applied Microbiology* 31, 209-212.
- Stephens, C.P., On, S.L.W., Gibson, J.A., 1998. An outbreak of infectious hepatitis in commercially reared ostriches associated with *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *Veterinary Microbiology* 61, 183-190.
- Stern, N.J., Meinersmann, R.J., Dickerson, H.W., 1990. Influence of antibody treatment of *Campylobacter jejuni* on the dose required to colonize chicks. *Avian Diseases* 34, 595-601.
- Stern, N.J., Cox, N.A., Bailey, J.S., Berrang, M.E., Musgrove, M.T., 2001a. Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* spp. colonization in broiler chickens. *Poultry Science* 80, 156-160.
- Stern, N.J., Fedorka-Cray, P., Bailey, J.S., Cox, N.A., Craven, S.E., Hiett, K.L., Musgrove, M.T., Ladely, S., Cosby, D., Mead, G.C., 2001b. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *Journal of Food Protection* 64, 1705-1710.
- Stern, N.J., Robach, M.C., Cox, N.A., Musgrove, M.T., 2002. Effect of drinking water chlorination on *Campylobacter* spp. colonization of broilers. *Avian Diseases* 46, 401-404.
- Stern, N.J., Robach, M.C., 2003. Enumeration of *Campylobacter* spp. in broiler feces and in corresponding processed carcasses. *Journal of Food Protection* 66, 1557-1563.
- Stern, N.J., Hiett, K.L., Alfredsson, G.A., Kristinsson, K.G., Reiersen, J., Hardardottir, H., Briem, H., Gunnarsson, E., Georgsson, F., Lowman, R., Berndtson, E., Lammerding, A.M., Paoli, G.M., Musgrove, M.T., 2003. *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease. *Epidemiology and Infection* 130, 23-32.
- Stern, N.J., Bannov, V.A., Svetoch, E.A., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Volozhantsev, N.V., Gusev, V.V., Perelygin, V.V., 2004. Distribution and characterization of *Campylobacter* spp. from Russian poultry. *Journal of Food Protection* 67, 239-245.
- Stern, N.J., Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Kovalev, Y.N., Volodina, L.I., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Levchuk, V.P., 2005. *Paenibacillus polymyxa* purified bacteriocin to control *Campylobacter jejuni* in chickens. *Journal of Food Protection* 68, 1450-1453.
- Stern, N.J., Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Pokhilenko, V.D., Levchuk VP, Svetoch OE and Seal BS, 2006. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, 3111-3116.
- Studahl, A., Andersson, Y., 2000. Risk factors for indigenous campylobacter infection: a Swedish case-control study. *Epidemiology and Infection* 125, 269-275.

- Svetoch, E.A., Eruslanov, B.V., Perelygin, V.V., Mitsevich, E.V., Mitsevich, I.P., Borzenkov, V.N., Levchuk, V.P., Svetoch, O.E., Kovalev, Y.N., Stepanshin, Y.G., Siragusa, G.R., Seal, B.S., Stern, N.J., 2008. Diverse antimicrobial killing by *Enterococcus faecium* E 50-52 bacteriocin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1942-1948.
- Takahashi, R., Shahada, F., Chuma, T., Okamoto, K., 2006. Analysis of *Campylobacter* spp. contamination in broilers from the farm to the final meat cuts by using restriction fragment length polymorphism of the polymerase chain reaction products. *International Journal of Food Microbiology* 110, 240-245.
- Tam, C.C., Higgins, C.D., Neal, K.R., Rodrigues, L.C., Millership, S.E., O'Brien, S.J., 2009. Chicken consumption and use of acid-suppressing medications as risk factors for *Campylobacter* enteritis, England. *Emerging Infectious Diseases* 15, 1402-1408.
- Tamborini, A.L., Casabona, L.M., Viñas, M.R., Asato, V., Hoffer, A., Farace, M.I., Lucero, M.C., Corso, A., 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, 266-271.
- Tang, J.Y.H., Mohamad Ghazali, F., Saleha, A.A., Nishibuchi, M., Son, R., 2009. Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. occurrence in two types of retail chicken samples. *International Food Research Journal* 16, 277-288.
- Tauxe, R., 1992. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. En I. Nachamkin, M. Blaser, L. Tompkins (Eds.) *Campylobacter jejuni: current status and future trends*. (pp. 9-19). American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Taylor, D.E., 1992. Genetics of *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Annual Review of Microbiology* 46, 35-64.
- Taylor, D.E., De Grandis, S.A., Karmali, M.A., Flemming, P.C., 1981. Transmissible plasmids from *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 19, 831-835.
- Taylor, D.E., Courvalin, P., 1988. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32, 1107-1112.
- Tenkate, T.D., Stafford, R.J., 2001. Risk factors for *Campylobacter* infection in infants and young children: a matched case-control study. *Epidemiology and Infection* 127, 399-404.
- Tenover, F.C., Williams, S., Gordon, K.P., Nolan, C., Plorde, J.J., 1985. Survey of plasmids and resistance factors in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 27, 37-41.
- Thomas, K., Chan, K.N., Ribeiro, C.D., 1980. *Campylobacter jejuni/coli* meningitis in a neonate. *British Medical Journal* 280, 1301-1302.
- Thorén, A., Lundberg, O., Bergdahl, U., 1988. Socio-economic effects of acute diarrhea in adults. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 20, 317-322.
- Thormar, H., Hilmarsson, H., Bergsson, G., 2006. Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 522-526.
- Torre, E., Tello, M., 1993. Factors influencing fecal shedding of *Campylobacter jejuni* in dogs without diarrhea. *American Journal of Veterinary Research* 54, 260-262.
- Trachoo, N., Frank, J.F., 2002. Effectiveness of chemical sanitizers against *Campylobacter jejuni*-containing biofilms. *Journal of Food Protection* 65, 1117-1121.
- Tribble, D.R., Baqar, S., Scott, D.A., Oplinger, M.L., Trespacios, F., Rollins, D., Walker, R., Clements, J.D., Walz, S., Gibbs, P., Burg III, E.F., Moran, A.P., Applebee, L., Bourgeois, A.L., 2010. Assessment of the duration of protection in *Campylobacter jejuni* experimental infection in humans. *Infection and Immunity* 78, 1750-1759.

- Tsai, H.J., Huang, H.C., Lin, C.M., Lien, Y.Y., Chou, C.H., 2007. Salmonellae and campylobacters in household and stray dogs in northern Taiwan. *Veterinary Research Communications* 31, 931-939.
- Turkson, P.K., Lindqvist, K.J., Kapperud, G., 1988. Isolation of *Campylobacter* spp. and *Yersinia enterocolitica* from domestic animals and human patients in Kenya. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 96 (1-6), 141-146.
- Ugarte-Ruiz, M., Gómez-Barrero, S., Porrero, M.C., Álvarez, J., García, M., Comerón, M.C., Wassenaar, T.M., Domínguez, L., 2012. Evaluation of four protocols for the detection and isolation of thermophilic *Campylobacter* from different matrices. *Journal of Applied Microbiology* 113, 200-208.
- Umunuabuike, A. C., Irokanulo, E.A., 1986. Isolation of *Campylobacter* subsp. *jejuni* from Oriental and American cockroaches caught in kitchens and poultry houses in Vom, Nigeria. *International Journal of Zoonoses* 13, 180-186.
- Van De Giessen, A.W., Bloemberg, B.P.M., Ritmeester, W.S., Tilburg, J.J.H.C., 1996. Epidemiological study on risk factors and risk reducing measures for *Campylobacter* infections in Dutch broilers flocks. *Epidemiology and Infection* 117, 245-250.
- Van De Giessen, A.W., Tilburg, J.J., Ritmeester, W.S., Van Der Plas, J., 1998. Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiology and Infection* 121, 57-66.
- Van Deun, K., Haesebrouck, F., Heyndrickx, M., Favoreel, H., Dewulf, J., Ceelen, L., Dumez, L., Messens, W., Leleu, S., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Pasmans, F., 2007. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* isolates of poultry and human origin. *Journal of Medical Microbiology* 56, 1284-1289.
- Van Deun, K., Pasmans, F., Ducatelle, R., Flahou, B., Vissenberg, K., Martel, A., Van Den Broeck, W., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., 2008a. Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut. *Veterinary Microbiology* 130 (3,4), 285-297.
- Van Deun, K., Pasmans, F., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 2008b. Butyrate protects Caco-2 cells from *Campylobacter jejuni* invasion and translocation. *British Journal of Nutrition* 100, 480-484.
- Van Deun, K., Haesebrouck, F., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Pasmans, F., 2008c. Short-chain fatty acids and l-lactate as feed additives to control *Campylobacter jejuni* infections in broilers. *Avian Pathology* 37, 379-383.
- Van Dyke, M.I., Morton, V.K., McLellan, N.L., Huck, P.M., 2010. The occurrence of *Campylobacter* in river water and waterfowl within a watershed in southern Ontario, Canada. *Journal of Applied Microbiology* 109, 1053-1066.
- Van Spreeuwel, J.P., Duursma, G.C., Meijer, C.J., Bax, R., Rosekrans, P.C., Lindeman, J., 1985. *Campylobacter colitis*: histological immunohistochemical and ultrastructural findings. *Gut* 26, 945-951.
- Van Vliet, A.H.M., Ketley, J.M., 2001. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. *Journal of Applied Microbiology* 90 (S6), 45S-56S.
- Vandamme, P., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., On, S.L.W., 2005. Family I: Campylobacteraceae Vandamme and De Ley 1991, 453 (VP). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2: the Proteobacteria, part C : the Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria.* p. 1145-1145.
- Vandamme, P., Debruyne, L., De Brandt, E., Falsen, E., 2010. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov. and emended description of the genus *Campylobacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60, 2016-2022.
- Vandenberg, O., Houf, K., Douat, N., Vlaes, L., Retore, P., Butzler, J.P., Dediste, A., 2006. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-jejuni/coli campylobacters and arcobacters from Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57, 908-913.
- Vanhoof, R., Goossens, H., Coignay, H., Stas, G., Butzler, J.P., 1982. Susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* from human and animal origins to different antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 21, 990-992.

- Van Looveren, M., Daube, G., De Zutter, L., Dumont, J., Lammens, C., Wijdooghe, M., Vandamme, P., Jouret, M., Cornelis, M., Goossens, H., 2001. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48, 235-240.
- Véron, M., Chatelain, R., 1973. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. *International Journal of Systematic Bacteriology* 23, 122-134.
- Wagenaar, J.A., Van Bergen, M.A., Mueller, M.A., Wassenaar, T.M., Carlton, R.M., 2005. Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. *Veterinary Microbiology* 109, 275-283.
- Wagenaar, J.A., Mevius, D.J., Havelaar, A.H., 2006. *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Review Science and Technical. Office International Epizooties* 25, 581-594.
- Walker, R.I., Caldwell, M.B., Lee, E.C., Guerry, P., Trust, T.J., Ruiz-Palacios, G.M., 1986. Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis. *Microbiological Reviews* 50, 81-94.
- Walker, R.I., Schmauder-Chock, E.A., Parker, J.L., Burr, D. 1988. Selective association and transport of *Campylobacter jejuni* through M cells of rabbit Peyer's patches. *Canadian Journal of Microbiology* 34, 1142-1147.
- Wang, W.L., Powers, B.W., Leuchtefeld, N.W., Blaser, M.J., 1983. Effects of disinfectants on *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 1202-1205.
- Wang, R.F., Slavic, M.F., Cao, W.W., 1992. A rapid PCR method for direct detection of low numbers of *Campylobacter jejuni*. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology* 1, 101-108.
- Wang, G., Clark, C.G., Taylor, T.M., Pucknell, C., Barton, C., Price, L., Woodward, D.L., Rodgers, F.G., 2002. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus subsp. fetus*. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 4744-4747.
- Wassenaar, T.M., Bleumink-Pluym, N.M., Van der Zeijst, B.A., 1991. Inactivation of *Campylobacter jejuni* flagellin genes by homologous recombination demonstrates that flaA but not flaB is required for invasion. *The EMBO Journal* 10, 2055-2061.
- Wassenaar, T.M., Blaser, M.J., 1999. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes and Infection* 1, 1023-1033.
- Wassenaar, T.M., Newell, D.G., 2000. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1-9.
- Watson, R.O., Galán, J.E., 2005. Signal transduction in *Campylobacter jejuni*-induced cytokine production. *Cellular Microbiology* 7, 655-665.
- Weijtiens, M.J.B.M., Van der Plias, J., Bijker, D.G.H., Urlings, H.A.D., Roster, D., Van Lotestijn, J.G., Huis In't Veld, J.H.J., 1997. The transmission of *Campylobacter* in piggeries: an epidemiological study. *Journal of Applied Microbiology* 83, 693-698.
- Westgarth, C., Pinchbeck, G.L., Bradshaw, J.W., Dawson, S., Gaskell, R.M., Christley, R.M., 2008. Dog-human and dog-dog interactions of 260 dog-owning households in a community in Cheshire. *Veterinary Record* 162, 436-442.
- Westgarth, C., Porter, C.J., Nicolson, L., Birtles, R.J., Williams, N.J., Hart, C.A., Pinchbeck, G.L., Gaskell, R.M., Christley, R.M., Dawson, S., 2009. Risk factors for the carriage of *Campylobacter upsaliensis* by dogs in a community in Cheshire. *Veterinary Record* 165, 526-530.
- Whitehouse, C.A., Balbo, P.B., Pesci, E.C., Cottle, D.L., Mirabito, P.M., Pickett, C.L., 1998. *Campylobacter jejuni* cytotoxic distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infection and Immunity* 66, 1934-1940.
- WHO, 1996. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality, vol. 2. Health criteria and other supporting information, Geneva.

- WHO, 2009. World Health Organization. Diarrhoeal Diseases. http://www.who.int/vaccine_research/diseases/diarrhoeal/en/index.html
- WHO, 2011. World Health Organization. *Campylobacter*. Fact sheet Nº 255. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>
- Whyte, P., Collins, J.D., McGill, K., Monahan, C., O'Mahony, H., 2001. Quantitative investigation of the effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processing. *Journal of Food Protection* 64, 179-183.
- Whyte, P., McGill, K., Collins, J.D., 2003. An assessment of steam pasteurization and hot water immersion treatments for the microbiological decontamination of broiler carcasses. *Food Microbiology* 20, 111-117.
- Whyte, R., Hudson, J.A., Graham, C., 2006. *Campylobacter* in chicken livers and their destruction by pan frying. *Letters in Applied Microbiology* 43, 591-595.
- Wieland, B., Regula, G., Danuser, J., Wittwer, M., Bumens, A.P., Wassenaar, T.M., Stärk, D.C., 2005. *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: risk factor analysis and molecular characterization with AFLP. *Journal of Veterinary Medicine B* 52, 183-189.
- Wilma, C., Hazeleger, R.R., Beumer, F.D., Rombouts, F.M., 1992. The use of latex agglutination tests for determining *Campylobacter* species. *Letter in Applied Microbiology* 14, 181-184.
- Wilson, I.G., 2003. Antibiotic resistance of *Campylobacter* in raw retail chickens and imported chicken portions. *Epidemiology and Infection* 131, 1181-1186.
- Wingstrand, A., Neimann, J., Engberg, J., Nielsen, E.M., Gerner-Smidt, P., Wegener, H.C., Molbak, K., 2006. Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. *Emerging Infectious Diseases* 12, 280-284.
- Wirz, S.E., Overesch, G., Kuhnert, P., Korczak, B.M., 2010. Genotype and antibiotic resistance analyses of *Campylobacter* isolates from ceca and carcasses of slaughtered broiler flocks. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 6377-6386.
- Withington, S.G., Chambers, S.T., 1997. The cost of campylobacteriosis in New Zealand in 1995. *New Zealand Medical Journal* 110, 222-224.
- Workman, S.N., Mathison, G.E., Lavoie, M.C., 2005. Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 2642-2650.
- Wösten, M.M., Wagenaar, J.A., Van Putten, J.P., 2004. The FlgS/FlgR two-component signal transduction system regulates the fla regulon in *Campylobacter jejuni*. *The Journal of Biological Chemistry* 279, 16214-16222.
- Yamamoto, T., Takano, T., Higuchi, W., Hung, W.C., Reva, I., Yabe, S., Iwao, Y., Khokhlova, O., 2013. Unique features of the motility and structures in the flagellate polar region of *Campylobacter jejuni* and other species: and electron microscopic study. *Microbiology and Immunology* 57, 83-90.
- Yamazaki-Matsune, W., Taguchi, M., Seto, K., Kawahara, R., Kawatsu, K., Kumeda, Y., Kitazato, M., Nukina, M., Misawa, N., Tsukamoto, T., 2007. Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis*. *Journal of Medical Microbiology* 56, 1467-1473.
- Yao, R., Burr, D.H., Guerry, P., 1997. CheY-mediated modulation of *Campylobacter jejuni* virulence. *Molecular Microbiology* 23, 1021-1031.
- Young, C.R., Ziprin, R.L., Hume, M.E., Stanker, L.H., 1999. Dose response and organ invasion of day-of-hatch leghorn chicks by different isolates of *Campylobacter jejuni*. *Avian Diseases* 43, 763-767.
- Young, K.T., Davis, L.M., DiRita, V.J., 2007. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* 5, 665-679.

- Yuki, N., 2001. Infectious origins of, and molecular mimicry in, Guillain-Barré and Fisher syndromes. *Lancet Infectious Diseases* 1, 29-37.
- Zanetti, F., Varoli, O., Stampi, S., DeLuca, G., 1996. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. *International Journal of Food Microbiology* 33, 315-321.
- Zanoni, R.G., Rossi, M., Giacomucci, D., Sanguinetti, V., Manfreda, G., 2007. Occurrence and antibiotic susceptibility of *Helicobacter pullorum* from broiler chickens and commercial laying hens in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 116, 168-173.
- Zanoni, R. G., Debruyne, L., Rossi, M., Revez, J., Vandamme, P., 2009. *Campylobacter cunicolorum* sp. nov., from rabbits. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59, 1666-1671.
- Zilbauer, M., Dorrell, N., Boughan, P.K., Harris, A., Wren, B.W., Klein, N.J., Bajaj-Elliott, M., 2005. Intestinal innate immunity to *Campylobacter jejuni* results in induction of bactericidal human beta-defensins 2 and 3. *Infection and Immunity* 73, 7281-7289.
- Zilbauer, M., Dorrell, N., Elmi, A., Lindley, K.J., Schüller, S., Jones, H.E., Klein, N.J., Núñez, G., Wren, B.W., Bajaj-Elliott, M., 2007. A major role for intestinal epithelial nucleotide oligomerization domain 1 (NOD1) in eliciting host bactericidal immune responses to *Campylobacter jejuni*. *Cellular Microbiology* 9, 2404-2416.
- Zilbauer, M., Dorrell, N., Wren, B. W., Bajaj-Elliott, M., 2008. *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102, 123-129.
- Zilhao, R., Papadopoulou, B., Courvalin, P., 1988. Occurrence of the *Campylobacter* resistance gene tetO in *Enterococcus* and *Streptococcus* spp. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 32, 1793-1796.
- Zuidhof, M.J., McGovern, R.H., Schneider, B.L., Feddes, J.J.R., Robinson, F.E., Korver, D.R. Goonewardene, L.A., 2004. Effects of feed withdrawal and livehaul on body weight, gut clearance, and contamination of broiler carcasses. *Journal of Applied Poultry Research* 13, 472-480.
- Zweifel, c., Scheu, K.D., Keel, M., Renggli, F., Stephan, R., 2008. Occurrence and genotypes of *Campylobacter* in broiler flocks, other farm animals, and the environment during several rearing periods on selected poultry farms. *International Journal of Food Microbiology* 125, 182-187.