UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"DIAGNÓSTICO DE *Campylobacter spp*, EN HECES DE CANINOS RECOLECTADAS EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA"

Tesis de grado previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

AUTOR:

Juan Carlos Cango Chamba

DIRECTORA:

Dra. Laura de Jesús Peña Merino, Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

Dra. Laura de Jesús Peña Merino, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

Que el trabajo de Tesis titulado **"DIAGNÓSTICO DE *Campylobacter spp* EN HECES DE CANINOS RECOLECTADAS EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA",** de autoría del señor egresado **Juan Carlos Cango Chamba,** previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista; ha sido desarrollado dentro del cronograma establecido. Los resultados alcanzados son pertinentes, tienen validez y actualidad científica, por lo tanto, se autoriza su presentación, para el trámite respectivo.

Loja, 28 de marzo de 2018

Atentamente.

.....

Dra. Laura Peña Merino, Mg. Sc

DIRECTORA DE TESIS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Que luego de haber procedido a la calificación de Tesis escrita del trabajo de investigación titulado **"DIAGNÓSTICO DE *Campylobacter spp* EN HECES DE CANINOS RECOLECTADAS EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA"**, del Sr egresado JUAN CARLOS CANGO CHAMBA, y al haber constatado que se ha incluido en el documento las observaciones y sugerencias realizadas por los miembros del tribunal autorizamos continuar con los trámites como requisito previo a la obtención del título de: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

APROBADO Loja, 11 de abril del 2018

.....

Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

....

Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc Dr. Galo Vinicio Escudero Sanchez Mg.Sc

VOCAL DEL TRIBUNAL **VOCAL DEL TRIBUNAL**

AUTORÍA

Yo, Juan Carlos Cango Chamba, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación del presente Informe de Tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca virtual.

Autor: Juan Carlos Cango Chamba

Firma: .....

Cedula: 1105182859

Fecha: Loja, 4 de junio de 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, Juan Carlos Cango Chamba, declaro ser el autor de la tesis titulada **"DIAGNÓSTICO DE *Campylobacter spp* EN HECES DE CANINOS RECOLECTADAS EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA"**, como requisito para optar al grado de: Médico Veterinario Zootecnista; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 4 días del mes de junio del dos mil dieciocho. Firma el autor.

Firma: .....

Autor: Juan Carlos Cango Chamba

Número de cédula: 1105182859

Dirección: Loja, San Sebastián; Sucre entre Catacocha y Lourdes.

Correo electrónico: jccango@gmail.com

Celular: 0994397422

Director de tesis: Dra. Laura de Jesús Peña Merino Mg. Sc.
Tribunal de grado: Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.

Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc

AGRADECIMIENTO

Al finalizar el presente trabajo investigativo agradezco a Dios por permitirme terminar esta etapa de mi vida. A la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables, y a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia; A la Dra. Laura Peña Merino por brindarme su apoyo incondicional en el desarrollo del presente trabajo, a los distintos docentes por brindarme y compartir sus conocimientos y sus sabios consejos.

A mis padres; Milton Vicente Cango Matailo y Rosa Agueda Chamba y a todos mis hermanos por la confianza y el apoyo brindado en cada momento.

Juan Carlos

DEDICATORIA

La presente tesis va dedica con inmenso amor a mis queridos padres Milton Vicente Cango Matailo y Rosa Agueda Chamba, en especial a mi papá que siempre estará a mi lado.

A mis hermanos quienes me han llenado de felicidad y orgullo

A mis tíos, primos y amigos quienes me han apoyado con mucho amor en el transcurso por conseguir este triunfo

A mis compañeros por ser parte de este camino, con quienes compartimos triunfos y derrotas.

Juan Carlos

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN II
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO III
AUTORÍA IV
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO. V
AGRADECIMIENTO VI
DEDICATORIA VII
ÍNDICE GENERAL VIII
ÍNDICE DE CUADROS X
ÍNDICE DE FIGURAS XI
ÍNDICE DE FOTOS XII
RESUMEN XIV
SUMMARY XV
1. INTRODUCCIÓN 1
2. REVISION DE LITERATURA 3
2.1. HISTORIA 3
2.2. DEFINICIÓN 4
2.3. ETIOLOGÍA 4
2.4. CARACTERÍSTAS 4
2.4.1. Características de Crecimiento *5*
2.5. EPIDEMIOLOGÍA 7
2.5.1. Campylobacteriosis en Ecuador *8*
2.6. RESERVORIOS 9
2.6.1. Mecanismos de Transmisión *9*
2.6.2. Viabilidad y periodos de incubación *10*
2.7. PATOGENIA 10
2.7.1. Toxina de Distensión Citoletal *11*
2.7.2. Signos Clínicos en Humanos *11*
2.7.3. Signos Clínicos en Caninos *12*
2.8. TRATAMIENTO 13
2.9. PREVENCIÓN 13
2.10. AISLAMIENTO, DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE CAMPYLOBACTER SPP. 14
2.10.1. Recolección de Muestras *14*

2.10.2. Examen Directo 14
2.10.3. Cultivo en Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) 14
2.10.4. Método de Filtración para Detección de Vibrio en Heces. 15
2.10.5. Temperatura Incubación 16
3. MATERIALES Y MÉTODOS 17
3.1. MATERIALES 17
3.1.1. De Campo 17
3.1.2. De Laboratorio 17
3.1.3. De Oficina 18
3.2. MÉTODOS 18
3.2.1. Delimitación del Área de Estudio 18
3.2.2. Características del Lugar de Muestreo 18
3.2.3. Número de Muestras 19
3.2.4. Toma de Muestra 19
3.2.5. Siembra e Incubación 19
3.2.6. Microscopía 20
3.2.7. Interpretación de Resultados 20
3.2.8. Variables 21
3.3. TOMA Y REGISTRO DE DATOS 21
3.3.1. Presencia de Campylobacter spp en los parques de la ciudad de Loja 21
3.3.2. Aislamiento de la Bacteria 21
3.3.3. Crecimiento a 27 °C, 37 °C Y 42 °C. 21
3.3.4. Coloración en Agar TCBS (Tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa). 22
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 22
4. RESULTADOS 23
4.1. PRESENCIA DE CAMPYLOBACTER SPP EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA. 23
4.2. AISLAMIENTO DE LA BACTERIA 24
4.3. COLORACIÓN EN AGAR TCBS 25
4.4. CRECIMIENTO A 27°C, 37°C Y 42 ° C 26
5. DISCUCIÓN 28
6. CONCLUSIONES 31
7. RECOMENDACIONES 32
8. BILIOGRAFÍA 33
9. ANEXOS 36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de *Campylobacter spp*……..... 4

Cuadro 2. Propiedades Bioquímicas de las diferentes especies de *Campylobacter spp*……..... 6

Cuadro 3. Propiedades Fenotípicas de especies de *Campylobacter*……... 21

Cuadro 4. Diagnóstico de *Campylobacter spp* en muestras de heces caninas tomadas de los parques de la ciudad de Loja…….. 32

Cuadro 5. Diagnóstico de *Campylobacter spp* mediante filtro de membrana de Nitrocelulosa……..... 24

Cuadro 6. Coloración de colonias en Agar TCBS. En el diagnóstico de *Campylobacter spp* (%)……

Cuadro 7. Temperaturas de Incubación para *Campylobacter spp* aislados de muestras de heces caninos en la ciudad de Loja (°C)……..... 26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Campylobacter jejuni* en microscopía electrónica……... **5**

Figura 2. Imagen satelital de los parques de la ciudad de Loja……. **18**

Figura 3. Porcentaje total de muestras positivas a *Campylobacter spp* en muestras tomadas en los parques de la ciudad de Loja…..... **24**

Figura 4. Porcentaje total de muestras positivas y negativas a *Campylobacter spp*……..... **25**

Figura 5. Porcentaje de coloración de colonias en Agar TCBS……. **26**

Figura 6. Porcentaje de crecimiento de *Campylobacter spp*, a diferentes temperaturas……..... **27**

ÍNDICE DE FOTOS

Foto 1. Recolección de muestras en los parques de la ciudad de Loja…….. 36

Foto 2. Preparación de placas con Agar TCBS, y filtración de muestras……. 36

Foto 3. Colocación de sobre generadores de Anaerobiosis (Campy Gen) e incubación……. 37

Foto 4. Placas con crecimiento positivo a *Campylobacter spp*…….. 37

Foto 5. Socialización de los resultados con estudiantes de tercer ciclo de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia…….. 37

“DIAGNÓSTICO DE *Campylobacter spp*, EN HECES DE CANINOS RECOLECTADAS EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA”

RESUMEN

Campylobacter es una bacteria zoonótica que tiene una amplia distribución en la naturaleza tanto en animales domésticos y aves silvestres, se considera uno de los principales agentes de gastroenteritis bacteriana a nivel mundial; conocer la prevalencia de *Campylobacter ssp,* en los parques públicos de la ciudad de Loja, en la que existe una gran afluencia de personas y mascotas, considerando que las mascotas son reservorios importantes de *Campylobacter.* Para el aislamiento de *Campylobacter spp,* se utilizó el Método de Filtración para Vibrio en Agar TCBS (Tiosulfato-Citrtao-Bilis-Sacarosa) usando la membrana de Nitrocelulosa de 0.45 micras como filtro, que logra separar el *Campylobacter spp,* del resto de bacterias de la flora microbiana fecal, sin necesidad de la adición de antibióticos inhibitorios de flora acompañante. Durante el periodo de investigación se analizaron 150 muestras fecales de caninos, dando una prevalencia de 8 % positivo a *Campylobacter spp.* La temperatura de incubación a la que mejor respondió *Campylobacter spp* fue a 42 °C, en la que se tuvo un crecimiento del 66.7 % de las muestras positivas a la Bacteria. Al término del trabajo investigativo se observó una prevalencia importante de *Campylobacter spp,* en heces de caninos recolectadas en los parques públicos de la ciudad de Loja, lo que plantea la necesidad de fortalecer la vigilancia y control de *Campylobacter spp.* Al considerar que las animales de compañía son reservorios y portadores del patógeno.

Palabras Clave: *Campylobacter spp,* Agar, Membrana de nitrocelulosa, heces, temperatura, caninos, parques

SUMMARY

Campylobacter is a zoonotic bacterium that has a wide distribution in nature in both domestic animals and wild bird, it is considered one of the main agents of bacterial gastroenteritis worldwide; To know the prevalence of *Campylobacter* ssp, in the public parks of the city of Loja, in which there is a large influx of people and pets, considering that pets are important reservoirs of *Campylobacter.* For the isolation of *Campylobacter spp,* the Filtration Method for Vibrio in Agar TCBS (Thiosulfate-Citrtao-Bile-Sucrose) was used using the 0.45-micron Nitrocellulose membrane as a filter, which manages to separate the *Campylobacter spp*, from the rest of the bacteria the fecal microbial flora, without the need for the addition of inhibitory antibiotics of accompanying flora. During the research period, 150 canine fecal samples were analyzed, giving a positive 8% prevalence of Campylobacter spp.

The temperature of incubation to which *Campylobacter spp* best resoved was at 42 ° C, in which there was a growth of 66.7% of the samples positive for Bacteria. At the end of the research work, an important prevalence of *Campylobacter spp* was observed in feces of canines collected in the public parks of the city of Loja, which raises the need to strengthen the surveillance and control of Campylobacter spp. When considering that companion animals are reservoirs and carriers of the pathogen.

Keywords: *Campylobacter spp,* Agar, Nitrocellulose membrane, feces, temperature, canines, park

1. INTRODUCCIÓN

La Campylobacteriosis es una enfermedad zoonótica que tiene como reservorio principal a las aves de corral, animal de compañía, agua y demás alimentos de consumo humano contaminados con el microrganismo. La campylobacteriosis es una de las principales causas de enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria en el mundo. En los países desarrollados y en vías de desarrollo provocan más casos de diarrea que Salmonella (Platts *et al.,* 2015).

The Global Burden Of Diseases señala que *Campylobacter* ocupa el cuarto lugar con un 8,4 % de enfermedades diarreicas, por debajo de rotavirus, fiebre tifoidea criptosporidiosis (Murray *et al.,* 2014).

En la actualidad la infección por *Campylobacter* representa un problema creciente, que puede llegar a convertirse en una enfermedad endémica en los países subdesarrollados, por consiguiente, se necesita tener un diagnóstico oportuno que permita emplear un tratamiento adecuado. Evitando de esta forma la evolución de especies antibioresistentes y reducción del grupo portador asintomático. (Platts *et al.,* 2015).

La presencia de *Campylobacter spp* en perros, representa un peligro inminente de contaminación directa e indirecta para el ser humano, en especial niños menores de 3 años, ancianos y personas con inmudepresión. En nuestro medio existen pocos estudios que indiquen la incidencia de *Campylobacter* en caninos, sin embargo, se asocian infecciones producidas por esta bacteria en humanos. Algunos estudios consideran que aproximadamente el seis por ciento de los casos de campylobcateriosis humana se deben al contacto con animales domésticos (Orihuel *et al.,* 2015).

El presente estudio “Diagnóstico de *Campylobacter spp,* en heces de caninos recolectadas en los parques de la Ciudad de Loja”. Tiene como finalidad encontrar la prevalencia actual de la enfermedad, mediante el método de filtración para Vibrio en heces.

Los objetivos que se plantearon en la presente investigación fueron:

Determinar de la presencia de *Campylobacter spp*, en heces frescas de caninos recolectadas en los parques de la cuidad de Loja.

- Identificar *Campylobacter spp*, mediante tres métodos: filtración para Vibrio en heces, prueba de catalasa (+) y tinción Gram.
- Determinar la prevalencia de *Campylobacter spp* en heces frescas de caninos recolectadas en los parques de la cuidad de Loja.
- Socializar los resultados obtenidos con los estudiantes de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. HISTORIA

Descrita por primera vez en 1886 por el pediatra y bacteriólogo Theodore Escherich (1875-1911), este género es una de las causas más comunes de enfermedades diarreicas que se transmiten por alimentos en el todo el mundo. 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 (Mc Fadyean 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 su 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 (Orihuel *et al.,* 2015).

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 (Orihuel *et al.,* 2015).

Durante mucho tiempo se clasificaron dentro de los vibrios, pero Sebald y Veron propusieron el género *Campylobacter* en 1963 para estos bacilos delgados y curvos que difieren del cólera clásico y de los vibrios halófilos (Henrry 2013). En la década de los ochenta, *Campylobacter spp.,* fue reconocido oficialmente como la causa de gastroenteritis bacteriana en el hombre, y se identifica como principal reservorio para el contagio del ser humano a la carne de pollo contaminada (Torralbo, 2013).

2.2. DEFINICIÓN

La campylobacteriosis se refiere a la infección causadas por bacterias del genero *Campylobcater.* Aunque por lo regular se trata de enfermedades diarreicas, estos microorganismos se caracterizan por causar infección en cualquier sitio o región, esto se ve más en individuos con inmunodepresión (OMS, 2017).

2.3. ETIOLOGÍA

Según la décima edición del Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, *Campylobacter* se clasifica de la siguiente manera.

Cuadro 1. Clasificación de *Campylobacter spp.*

Reino	**Bacteria**
Filo	Protobacteria
Clase	Epsilonbacteria
Orden	Campylobacterales
Familia	Campylobacteraceae

Fuente: Toralbo (2013)

Actualmente se reconocen 22 especies de *Campylobacter* incluidos de este género *C. fetus* (especie y 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, C. helveticus* (Debruyne y cols, 2008), sumándose *C. avium* (Rossi y cols., 2009) *y C. cuniculorum* (Zanoni y cols.,2009), así mismo como *C. ureolyticus* en el 2010 por la reclasificación de *bacteroides ureolyticus, C. troglodytis* en el 2011 (Kaur *et al.,* 2011).

2.4. CARACTERÍSTAS

Las especies que constituyen este género son gram negativas, no sacarolíticas con requerimientos de crecimiento microaerobico, no forman esporas y tiene bajo contenido de guanina y citosina (entre el 29 y 47 molar). Su morfología es curvada en forma de S o espiral, aunque en ciertas especies puede predominar la forma recta, con unas dimensiones que van de 0,2 a 0,8 um de ancho y de 0,5 a 5 um de largo.

Tienen motilidad gracias a la presencia de un flagelo polar sin vaina en uno de sus extremos, su movimiento es similar al de un sacacorchos. De esta manera la motilidad mediada por el flagelo y en algunas especies por múltiples flagelos se reconoce como uno de los mayores factores que contribuyen a la virulencia del *Campylobacter* (Guerry, 2007).

Figura 1. *Campylobacter jejuni* en microscopía electrónica.

2.4.1. Características de Crecimiento

Estas bacterias requieren condiciones microaerobias, pero algunas cepas pueden crecer también en aerobiosis y anaerobiosis. No fermentan ni oxidan los carbohidratos. Algunas especies, particularmente *C. jejuni, C. coli y C. lari,* son termófilas, y crecen óptimamente a 42°C. Pueden colonizar superficies mucosas, generalmente del tracto intestinal, en la mayoría de las especies de mamíferos y de aves probadas. La especie *C. jejuni* comprende dos subespecies *(C. jejuni subespecie jejuni y C. jejuni subespecie doylei)* que pueden diferenciarse sobre la base de varias pruebas fenotípicas (la reducción del nitrato, la reducción de la selenita, el fluoruro sódico y la safranina) y el crecimiento a 42°C) (la subespecie *doylei* no crece a 42 °C). La subespecie *jejuni* se aísla más fácilmente que la subespecie *doylei.* (OIE 2008).

Su temperatura de crecimiento varía entre los 3°C y 37° C, la mayoría de especies son incapaces de crecer a menos de 30 °C debido a la ausencia de genes que codifican las proteínas de choque térmico. A pesar de todo existen algunas especies

que se la denomina “termofílicas”, como *C. jejuni, y C. coli,* capaces de crecer entre 37 y 42 °C, para las que se sugiere el nombre de termotolerantes (Toralbo, 2013).

Estas características propias de *Campylobacter,* reducen la capacidad de multiplicarse fuera de su hospedador, así como durante el proceso y almacenamiento de alimentos. Además, su crecimiento óptimo se produce con una actividad de agua de 0,997 y una concentración aproximada de cloruro de sodio (Na Cl) de 0,5 % m/v, es incapaz de crecer con un pH menor a 4,9 y mayor de 9,0, encontrándose su pH optimo entre 6,5 y 7,5 (Silva *et al.,* 2011).

La velocidad de crecimiento es más lenta que la de las bacterias que se encuentren en la flora entérica, por lo que para su cultivo se necesita medios selectivos que inhiban la flora bacteriana acompañante.

Cuadro 2. Propiedades Bioquímicas de las Diferentes Especies de *Campylobacter spp.*

Especie	**Catalasa**	**Hipurato**	**Indol**	**Vogues-Proskauer**	**Oxidasa**	**Ureasa**
C. jejuni	+	-	+	-	+	-
C. coli	+	-	-	-	+	-
C. lari	+	-	-	-	+	V
C. fetus	+		-	-	+	-
C. upsaliensis	-	-	+	-	+	-
C. hyointestinalis	+	-	-	-	+	-
C. rectus	V	-	-	-	+	-
C. Showae	+	-	-	-	+	-
C. sputorum	V	-	-	-	+	-
C. hominis	-	ND	-	-	+	-
C. gracilis	V	-	V	-	V	-

+ reacción positiva, - reacción negativa, V variable dependiendo de la cepa, ND no determinado.

Fuente: Toralbo (2013)

2.5. EPIDEMIOLOGÍA

La campylobacteriosis es una zoonosis mundial, bacterias del genero *Campylobacter* son una de las principales causas de las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria del ser humano y las bacterias más comunes causantes de gastroenteritis en el mundo entero.

La presencia de *Campylobacter* como comensal del tracto digestivo de los animales hace que el microrganismo este difundido por todo el mundo, encontrándose en lugares tan aislados como la Antártida (Platts *et al.,* 2015).

En el continente asiático, en China se ha aislado con mayor frecuencia *Campylobacter spp* en pollos broilers (Wang, Guo, & Li, 2013), en Japón se reportó el aislamiento de *Campylobacter spp* en perros y gatos (Misawa, Kawashima, & Kondo, 2001). En África se ha aislado *Campylobacter spp*. en distintas regiones tanto de aves domésticas como de aves silvestres, ganado bovino, camellos y caballos. Salihu, Magaji, Abdulkadir, & Kolawale (2010) en Nigeria aislaron *Campylobacter spp* el 27,7% de una muestra de 141 canes. (Toralbo, 2013).

En Sudamérica se ha asilado *Campylobacter spp* en perros, gatos, aves de corral y en ganado, incluso animales de la amazonia en donde la especie con mayor prevalencia es *C. coli* (Fernández, 2011).En Argentina se ha identificado la presencia de *Campylobacter spp,* en el hospital de la ciudad de Santa Rosa en pacientes así como en sus mascotas, sobresaliendo la relación genética de los aislamientos entre las personas y sus mascotas, sugiriendo que tuvieron la misma fuente de contaminación (Tamborini *et al*., 2012).

La gravedad con la que *Campylobacter* va afectar a su hospedador dependerá de la cantidad del inoculo que ingiera y la condición inmunológica del paciente, pues tiene una dosis infectante baja comprendida entre 500-600 microorganismos. Los factores de riesgo para contraer la infección son: carne de aves de corral contaminada, aguan contaminada y el contacto con mascotas (Hernández *et al.,* 2013).

2.5.1. Campylobacteriosis en Ecuador

El estudio de *Campylobacter* en Ecuador es muy escaso, debido a que a las enfermedades diarreicas no se les da la misma importancia y atención que a otras enfermedades. Sin embargo, es uno de los motivos por lo cual los niños visitan los centros de salud.

A pesar de las limitantes se han realizado algunos estudios referentes a enfermedades diarreicas uno de los primeros estudios se lo realizo en el año de 1987 donde Guarderian, Ordoñes, y Bossano, examinaron 100 niños de una edad comprendida entre 1 y 24 meses los cuales presentaban diarrea, en esa ocasión en el hospital pediátrico de Quito “Baca Ortiz” dando como resultado que el 23 % de las muestras fue positivo a *Campylobacter* (Andrade, 2017).

Un estudio realizado por Vasco *et al.* (2014), donde recolecto muestras de heces fecales de personas que presentaban signos gastrointestinales y aquellas que no los padecían, en la comunidad rural de Borbón en la provincia de Esmeraldas y en Guamaní en la ciudad Quito. En la zona urbana de una muestra de 200 personas, observó que 11 individuos presentaban *Campylobacter jejuni* (5,5%) y 5 individuos *Campylobacter coli* (2,5%), mientras que en Borbón la presentación fue más baja ya que solo hubo un caso para *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli.* El hallazgo de *Campylobacter* fue mayor en la zona urbana que en la zona rural, pese a que en la zona rural las condiciones sanitarias no eran las más adecuadas (Andrade, 2017).

En el área avícola se han realizado diferentes investigaciones principalmente en mataderos, en las diferentes áreas de procesamiento de las carcasas y vísceras, así como en supermercados y ferias libres donde se obtuvieron muestras positivas a *Campylobacter spp.* Demostrando el riesgo que representa para la población en lo referente a salud pública (Medina y Vinueza 2015).

En canes los estudios son muy escasos registrándose cuatro, dos en la ciudad Loja y dos en la ciudad de Quito (Manzanillas, 2012; Montoya, 2016; Vasco, Graham, Trueba 2016; y Andrade, 2017).

Manzanillas (2012) realizó un estudio en 43 canes que presentaban síntomas gastroentéricos y respiratorios, esto se llevó a cabo en el Hospital Docente Veterinario

de la Universidad Nacional de Loja, dando como resultado un 65, 12 % positivo a *Campylobacter spp.*

Montoya (2016) recolecto heces de caninos en los parques públicos de la ciudad de Loja (Recreacional Jipiro y Lineal la Tebaida) donde el 10 % de las muestras fue positivo a *Campylobacter spp.*

Un estudio realizado en la ciudad de Quito, *Campylobacter jejuni* fue el más prevalente en las 82 muestras de animales con un 30,7 %, junto con otros agentes entero patógenos. La presentación de *Campylobacter* en canes fue de un 30% en una muestra de 12 animales (Vasco, 2015).

2.6. RESERVORIOS

Campylobacter spp se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, el reservorio natural es una gran variedad de animales domésticos y de vida silvestre, tales como ganado vacuno, cerdos, ovejas, aves de corral, cabras, perros, gatos y roedores, entre otros.

Las aves de consumo y sus subproductos constituyen uno de los principales reservorios y fuente de infección humana. Los reservorios naturales son el agua y la tierra contaminada con materia fecal infectada (Murray *et al.,* 2014).

2.6.1. Mecanismos de Transmisión

Tanto en animales como en humanos el germen debe ser ingerido para causar la enfermedad (vía fecal-oral directa o indirecta), es decir que la infección tiene lugar como consecuencia de la ingestión directa de las heces o bien de la ingestión de un producto animal o agua contaminado con heces infectadas.

En humanos la vía de contaminación son los productos contaminados con *Campylobacter spp,* en otros cosos puede ser por contaminación accidental con las heces de los animales infectados, por agua contaminada; otra fuente de transmisión menos frecuente es la transmisión fecal-oral de persona a persona, por ingerir alimentos manipulados por personas infectadas y sintomáticas

La vía de transmisión fecal-oral entre individuos infectados es posible, en especial entre niños sin control de esfínter o en ambientes con malas condiciones sanitarias (Lapierre, 2013).

En animales domésticos la transmisión del germen es horizontal, debido a que la infección surge pocos días después del nacimiento cuando el nuevo individuo entra en contacto con heces, animales infectados, alimentos contaminados, agua y medio ambiente (Hernández, 2013).

2.6.2. Viabilidad y periodos de incubación

Campylobacter spp, por lo general pueden sobrevivir a ambientes húmedos, algunas cepas logran soportan temperaturas hasta de -20 °C, se estima que tanto *C. jejuni* como *C. coli,* pueden permanecer activas en las camas húmedas de aves por periodos prolongados, *C. fetus* puede lograr mantenerse activo 24 horas en el estiércol líquido y de 15 a 20 días en el suelo.

Hay un sinnúmero de factores que dificultan la viabilidad de *Campylobacter spp,* como son; el pH y la desecación, la tensión del oxígeno, tiene poca probabilidad de sobrevivencia a temperaturas inferiores a los 30 °C, la congelación de alimentos se usa como control de *Campylobacter,* pero existen ciertas cepas que logran permanecer activas durante meses.

En cuanto a los periodos de incubación en infecciones entéricas por *Campylobacter* en animales suelen ser cortos, los síntomas de enteritis aparecen a los tres días en cachorros, y más rápidamente en pollos y pavos recién nacidos. En bovinos los abortos suelen ocurrir después de 7-25 días de haber contraído la bacteria (Romero, 2007).

2.7. PATOGENIA

El principal mecanismo de patogenicidad de *Campylobacter* es la invasión de la mucosa intestinal, en forma similar a Shigella. El bacilo vive en el interior de los fagocitos mononucleares por lo que la respuesta inflamatoria no logra controlar la infección. El resultado de la invasión generalmente es una enterocolitis glandular,

pérdida de la producción de mucus, abscesos de las criptas y ulceración de la mucosa epitelial (Murray *et al.,* 2014).

La gravedad de la infección depende de la exposición previa, cantidad y virulencia de los microorganismos ingeridos, el desarrollo de anticuerpos protectores y la presencia de otros enteropatógenos. El estrés ambiental, fisiológico o las infecciones entéricas concurrentes pueden exacerbar la intensidad de la enfermedad. (Murray *et al.,* 2014).

Una vez que el *Campylobacter* ha invadido al hospedador puede sobrevivir por un buen periodo de tiempo dentro del epitelio celular, hasta que existan las condiciones adecuadas, para la inducción a la respuesta citotóxica (Konkel et al., 2001).

En las células epiteliales intestinales la adhesión celular es un proceso reversible, complejo, que se encuentra influenciado por diversos factores. El flagelo polar compuesto por una flagelina mayor Fla A y una menos FlaB, juega un papel importante para el abordaje de los sitios de unión sobre las células epiteliales del intestino y posterior invasión, incluye quimiotaxis y la secreción de proteína esto debido a que *Campylobacter* no posee sistemas secreción tipo 3 o tipo 4 (SST3 y SST4), que son indispensables en otras especies patógenas (Torralbo, 2013).

2.7.1. Toxina de Distensión Citoletal

Es una toxina que es producida por diversas especies bacterianas, esta toxina detiene el ciclo celular en G1 y G2 durante la mitosis, provocando muerte celular y consecuentemente una respuesta inflamatoria (Lapierre, 2013).

Está constituida por tres subunidades codificadas por los genes codtAy cdtB y cdtC, que permiten la unión de la membrana celular del hospedador produciendo daño celular en el ADN del huésped (Lapierre, 2013). La subunidad cdtB es más activa la cual destruye el mecanismo de reparación celular produciendo la muerte de la célula (Lapierre, 2013).

2.7.2. Signos Clínicos en Humanos

En humanos la infección gastrointestinal por lo general es autolimitada. Se caracteriza por diarrea acuosa, fiebre, dolor abdominal, calambres y retortijones. Es la infección más común que se presenta, siendo el prototipo de las Campylobacterias:

Campylobacter jejuni. En los EUA se ha estimado que cada año existen 2.1 a 2.4 millones de casos humanos infectados por *Campylobacter*, caracterizada por diarrea, fiebre y dolor abdominal, son los síntomas más comunes. Sin embargo, los síntomas y signos no son distintos a otras infecciones causadas por otras bacterias, lo que dificulta al médico el diagnóstico. El periodo de incubación es de 2 a 5 días, pero puede extenderse hasta los 10 días. Se ha observado que el 50% de los pacientes con diarrea es precedido por un periodo febril, malestar generalizado, mialgia, dolor abdominal y fiebre que puede llegar a los 40 °C. Es habitual que se presente un periodo prodrómico con fiebre, cefalea, mialgia y malestar general entre 12 y 24 h, antes del inicio de los síntomas. Al inicio de la infección la materia fecal es acuosa, pero a medida que progresa la enfermedad ésta se torna sanguinolenta con tenesmo, el cual es un síntoma común (Cabello, 2007).

Esta enfermedad es muy común en países industrializados, así como en los países en desarrollo, en los cuales se ha encontrado que afecta a la gente de todas las edades, teniendo una distribución binomial en niños menores de 4 años y adultos jóvenes de 15 a 44 años de edad. Los individuos con HIV (SIDA) tienen un alto riesgo de adquirir la infección por *Campylobacter,* además de que ésta puede ser invasiva (Cervantes *et al.,* 2007).

En algunas ocasiones, la persona infectada por varias semanas de diarrea puede adquirir una enfermedad que afecta al sistema nervioso llamada Síndrome de Guillain-Barré. Esta ocurre cuando el sistema inmunológico de la persona empieza a atacar al sistema nervioso pudiendo provocar hasta una parálisis que dura varias semanas. Se estima que, en Estados Unidos, 1 de cada 1,000 casos de Campilobacteriosis conduce a padecer este síndrome (Torralbo, 2013).

2.7.3. Signos Clínicos en Caninos

En perros domésticos, algunos de los autores han descrito la existencia de relación entre los procesos entéricos en estos animales y la presencia de *Campylobacter* en las heces, presentando a veces retraso en el crecimiento, condición corporal pobre y pelaje áspero.

Algunos estudios manifiestan 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 microorganismos ya han invadido la mucosa, permitiéndole una colonización más eficaz.

El principal signo es la diarrea que puede ser desde leve hasta acuosa o mucoide sanguinolenta. Además, puede presentarse fiebre, anorexia y vómitos. La condición generalmente dura 1-3 semanas. *C. jejuni:* puede causar diarrea aguda o crónica comúnmente con moco y sangre del intestino grueso en animales menores de 6 meses. Puede haber animales infectados que eliminan el germen en las heces y no presentar sintomatología clínica (Sáenz, 2007).

2.8. TRATAMIENTO

En canes el tratamiento de elección es la terapia con eritromicina 11-15 mg/kg/Vía oral/ TID, neomicina 20 mg/kg/Vía oral/ BID durante 1-3 días hasta obtener la resolución de los signos clínicos, sin embargo, el tratamiento puede llegar a extenderse si no se mejoran las condiciones ambientales especialmente en animales de criaderos o refugios (Cervantes y Cravioto 2007).

2.9. PREVENCIÓN

- Cocción completa de alimentos de origen animal, especialmente la carne de aves.
- Lavarse las manos con jabón después de manipular alimentos crudos de origen animal.
- Lavar tablas de cocina, mostradores y superficies donde se haya manipulado alimentos crudos de origen animal.
- Consumir leche y subproductos lácteos pasteurizados.
- Consumir agua potable.
- Evitar que personas con enfermedad intestinal manipulen alimentos para consumo de otras personas.
- Si se tiene mascotas tomar medidas higiénicas como lavado de manos después de tocar a los animales, así como limpieza y desinfección de instalaciones (Rossi *et al.,* 2017).

2.10. AISLAMIENTO, DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE *Campylobacter spp.*

Para el aislamiento exitoso de *Campylobacter spp* depende de factores como el medio de cultivo, la temperatura de incubación la cual se recomienda que sea a 42°C, con el propósito de minimizar el crecimiento de contaminantes y la atmósfera apropiada con un 5-10% de dióxido de carbono, para que se puede desarrollar óptimamente el microorganismo. Para el diagnóstico de *Campylobacter spp* la prueba establecida es el cultivo y aislamiento, el cual puede llevarse a cabo a partir de heces o hisopados rectales, basándose en la morfología de las colonias; las cuales pueden ser pequeñas, aplanadas, de un color metálico grisáceo con una apariencia acuosa, junto con la observación al microscopio (Fernández *et al.,* 2011).

2.10.1. Recolección de Muestras

Las muestras de deposiciones pueden ser tomadas con hisopo rectal o bien por evacuación espontánea, pudiendo mantenerse a temperatura ambiente, por algunas horas, evitando su desecación.

La refrigeración de las muestras prolonga por varios días la sobrevivencia del microrganismo. Si es necesario usar un medio de transporte, debe utilizarse el medio Cary Blair modificado por la reducción de la concentración de agar en un 0,12% (Malbrán, 2007).

2.10.2. Examen Directo

Las muestras de materia fecal pueden ser examinadas a través de una tinción simple como Gram utilizando carbol fucsina como colorante de contraste, o azul de metileno para identificar leucocitos y formas bacilares curvas. La observación en microscopio óptico con objetivo de inmersión (100X) o de campo oscuro de bacilos curvos y/o espiralados con gran motilidad en forma circular o de sacacorchos nos permite un diagnóstico presuntivo rápido (Chanqueo *et al.,* 2005).

2.10.3. Cultivo en Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa)

El Agar TCBS, por las iniciales de Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa, es preparado de acuerdo con la fórmula de Kobayashi y col. siendo una modificación del medio de

Nakanishi. En el Agar TCBS crecen todas las especies de Vibrio patógenas para el humano excepto *V. hollisae.* Las muestras pueden ser de materiales clínicos.

El Agar TCBS es altamente selectivo para las especies de Vibrio debido a sus componentes nutricionales, a la alta concentración de sales y es ampliamente utilizado en placa para el primo aislamiento. Este medio junto en el Agua Peptonada Alcalina es utilizado para el aislamiento de *V.cholerae* y otras especies a partir de muestras fecales.

En este medio el extracto de levadura y las peptonas proporcionan la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos. El citrato de sodio, el tiosulfato de sodio y la bilis actúan como agentes inhibidores de microorganismos Gram positivos y coliformes dando alcalinidad al medio. La sacarosa es el carbohidrato fermentable. El cloruro de sodio promueve el crecimiento. El tiosulfato de sodio es la fuente de sulfuro y el citrato de hierro es un indicador para detectar la producción de H2S. El azul de timol y de bromotimol, actúan como indicadores de pH. El agar bacteriológico es agregado como agente solidificante. (Malbrán, 2007).

2.10.4. Método de Filtración para Detección de Vibrio en Heces.

El método se basa en la separación de *Campylobacter* del resto de la flora microbiana presente en las heces, como por ejemplo los coliformes, que quedan retenidos en la superficie de una membrana de celulosa de 0,45 µm; los bacilos que logran penetrar transponer la membrana van a depositarse sobre un medio de cultivo en este caso agar TCBS (agar tiosulfato citrato bilis sacarosa) que actuará como sustrato para el crecimiento del microrganismo.

De esta manera se obtiene un cultivo selectivo, situación que remplaza a la adición de antibióticos, para eliminar la flora acompañante. Este método se recomienda para el aislamiento de las especies emergentes (ej. *Campylobacter upsaliensis).*

Procedimiento: atemperar el medio de cultivo en placa de Petri, acomodar con una pinza los filtros estériles de celulosa de 0,45 µm, esperar a que se adhieran al medio.

Realizar una suspensión de materia fecal en solución fisiológica y con una micropipeta o pipeta Pasteur, depositar aproximadamente 100 µl sobre la membrana, tratando que

no se derrame sobre el medio de cultivo. Dejar que se filtre por un tiempo mínimo de 30 minutos, luego levantar el filtro con la pinza y desecharlo.

Estriar el filtrado con asa de platino. Acondicionar las placas en jarras para incubar en micro aerófila a 37°C durante 24-48 horas. Si la diarrea es acuosa, no es necesario realizar una suspensión en solución fisiológica (Malbrán, 2007).

2.10.5. Temperatura Incubación

Las especies termófilas de *Campylobacter* crecen mejor a 42-43°C que a 37°C. La mayor temperatura actúa como inhibición de la flora fecal. Si no se cuenta con una estufa a esa temperatura, se puede utilizar una de 37°C con las consideraciones del caso (Malbrán, 2007).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. De Campo

- Heces de caninos
- Cámara
- Esferos
- Mandil
- Medio de transporte Cary Blair
- Guantes
- Hielera

3.1.2. De Laboratorio

- Mechero
- Placas de petri con Agar TCBS (Tiosulfato Bilis Sacarosa)
- Membranas de nitrocelulosa de 0,45 micras
- Sobres generadores de anaerobiosis (Campy Gen)
- Asa de platino
- Erlenmeyer
- Pinzas estériles
- Pipeta de 1 ml estériles
- Jarra Anaerojar
- Guantes Gradilla
- Porta objetos
- Cristal violeta
- Agua destilada
- Agua
- Agua oxigenada al 3%
- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Refrigeradora

3.1.3. De Oficina

- Computadora
- Hojas de papel bon
- Hojas de registro de datos
- Calculadora
- Material de escritorio

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Delimitación del Área de Estudio

El presente estudio tuvo como principal escenario los diferentes parques de la ciudad de Loja; Parque central, Parque Simón Bolívar, Parque colinas del Pucara, Parque orillas del Zamora, Parque Lineal del Sur, Parque Daniel Álvarez, Parque Recreacional Jipiro, Parque Infantil, Parque los Molinos, Parque ciudadela del Maestro, Parque San Pedro, Parque de la Pradera, Parque la Cascarilla, Jardín Botánico Reinaldo Espinosa.

3.2.2. Características del Lugar de Muestreo

La recolección de las muestras se realizó en forma sistemática en la que se consideró los parques y la parroquia a la que pertenecen, cabe destacar que el estudio se enfatizó en la recolección de heces frescas o recién evacuadas de los perros, que a la vez fueron transportadas inmediatamente al “Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario”, durante el periodo de estudio, hubo una variación de temperatura ambiental entre los 15- 25 °C.

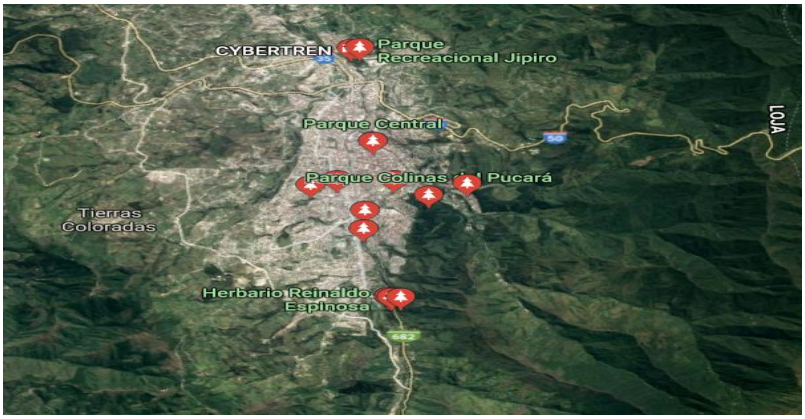

Figura 2. Imagen satelital de los parques de la ciudad de Loja.

3.2.3. Número de Muestras

En la ciudad de Loja se estima una población de 82000 canes. (Arévalo, 2016).

$$\boldsymbol{n} = \frac{N\,\sigma^2 Z^2}{(N-1)e^2 + \sigma^2 Z^2}$$

Dónde:

n= Tamaño de la muestra.

N= Tamaño de la población.

σ^2= Desviación estándar de la población.

Z= Valor obtenido mediante niveles de confianza.

e= Limite aceptable de error muestral.

$$\boldsymbol{n} = \frac{82000 * 0.5^2 \ * 1.96^2}{0.08^2(82000-1) + \ 0.5^2 * 1.96^2} = 150$$

Durante el periodo de investigación se recolectaron 150 muestras de heces frescas de caninos en los diferentes parques públicos de la ciudad de Loja.

3.2.4. Toma de Muestra

La toma de muestras se realizó en los diferentes parques de la ciudad de Loja, priorizando las heces frescas o recién evacuadas. Las mismas que fueron transportadas en el medio Cary Blair, medio que brinda condiciones adecuadas para mantener a los microrganismos hidratados y con nutrientes necesarios para su replicación.

3.2.5. Siembra e Incubación

El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de “Diagnóstico Integral Veterinario”, de la Facultad Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja; donde se procedió a colocar las muestras en solución fisiológica, posteriormente se realizó a filtración de las muestras sobre las placas con

agar TCBS, que permitieron tener un cultivo puro; para la incubación de las muestras se utilizó los sobres generadores de anaerobiosis (Campy Gen) dentro de la Jarra Anaerojar durante 24-48 horas a 42° C.

3.2.6. Microscopía

Al culminar el periodo de incubación, se apreció en algunas placas Petri la formación de colonias planas no hemolíticas de un color apartemente acuoso, con bordes irregulares que siguen la línea del estriado, posteriormente se confirmaron mediante la tinción de Gram, en la que se visualizó los bacilos en forma de gaviota, otros curvos y en forma de bastón.

3.2.7. Interpretación de Resultados

En las placas que dieron positivos al crecimiento de *Campylobacter spp,* se observaron colonias amarillas, cremosas, brillantes, no hemolíticas, de bordes regulares, mientras que las placas negativas no se observó ningún cambio, permaneciendo el Agar de color verde.

Los cultivos que tuvieron un crecimiento de colonias características a *Campylobacter spp* se realizaron los siguientes procedimientos:

a) Tinción de Gram

Se utilizó fucsina fenicada como colorante de contraste, para luego proceder a observar en el microscopio óptico con el objetivo de inmersión (100 X) logrando identificar los bacilos finos en forma de gaviota o bastón.

b) Prueba de Catalasa

Para esta prueba se tomó con cuidado una colonia de cultivo de *Campylobacter* con el asa de platino (evitando coger agar), se la coloco sobre un porta objetos sin añadir agua, se procedió a colocar una gota de agua oxigenada pura al 3%. Las pruebas que resultaron positivas, desprendieron burbujas como consecuencia de la actividad enzimática de la catalasa, debido a que esta enzima tiene la capacidad de degradar el peróxido de hidrogeno H2O2.

Cuadro 3. Propiedades fenotípicas de diferentes especies de *Campylobacter.*

Características	***C. jejuni***	***C. Coli***	***C. upsaliensis***	***C. fetus***
Oxidasa	+	+	+	+
Catalasa	+	+		+
Crecimiento				
25°C	-	-	-	+
37°C	+	+	+	+
42°C	+	+	+	-

Fuente: Murray *et al.,* (2014).

3.2.8. Variables

Se evaluaron las siguientes Variables:

- Presencia de *Campylobacter spp* en los parques de la ciudad de Loja
- Aislamiento de la Bacteria
- Crecimiento a 27°C, 37°C y 42°C.
- Coloración en Agar TCB (Tiosulfato-Citrato-Bilis Sacarosa).

3.3. TOMA Y REGISTRO DE DATOS

3.3.1. Presencia de *Campylobacter spp* en los parques de la ciudad de Loja

Esta variable se analizó con la finalidad de tener en cuenta que parque tiene la mayor presencia de *Campylobacter spp*.

3.3.2. Aislamiento de la Bacteria

El análisis de esta variable se basó en el crecimiento de la bacteria en el Agar TCBS (Tiosulfato- Citrato-Bilis-Sacarosa), al utilizar el método de filtración en la membrana de nitrocelulosa, que permitió aislar *Campylobacter spp* del resto de microrganismos fecales.

3.3.3. Crecimiento a 27 °C, 37 °C Y 42 °C.

Esta variable se la determinó con la finalidad de comprobar la temperatura ideal para el crecimiento de *Campylobacter spp,* las placas que presentaron un crecimiento de

sus colonias positivas a *Campylobacter,* se procedieron a sembrar en Agar TCBS, e incubadas en ambiente de microaerofilia por 24 horas posteriormente se observó el crecimiento.

3.3.4. Coloración en Agar TCBS (Tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa).

Para esta variable se tomó en cuenta el crecimiento de la bacteria en el Agar TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa), y se determinó la coloración característica del cultivo.

3.4. Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para el ordenamiento y tabulación de los resultados, para su posterior interpretación.

4. RESULTADOS

4.1. PRESENCIA DE *Campylobacter spp* EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA.

Durante el periodo de investigación se recolectó 150 muestras que fueron obtenidas en los diferentes parques de la ciudad de Loja.

Cuadro 4. Diagnóstico de *Campylobacter spp* en muestras de heces caninas tomadas de los parques de la ciudad de Loja.

PARQUES	NÚMERO DE MUESTRAS	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%
Parque Central	5	0	0	5	3,33
Parque Simón Bolívar	5	0	0	5	3,33
Parque Colinas del Pucara	10	0	0	10	6,67
Parque Orillas del Zamora	10	2	1,33	8	5,33
Parque Lineal la Tebaida	20	4	2,67	16	10,67
Parque Daniel Álvarez	20	3	2	17	11,33
Parque Recreacional Jipiro	20	3	2	17	11,33
Parque Infantil	10	0	0	10	6,667
Parque Los Molinos	5	0	0	5	3,333
Parque Ciudadela del Maestro	5	0	0	5	3,333
Parque San Pedro	10	0	0	10	6,667
Parque de la Pradera	10	0	0	10	6,667
Parque Julio Ordoñez	10	0	0	10	6,667
Parque Celi Román	5	0	0	5	3,333
Parque La Cascarilla	5	0	0	5	3,333
TOTAL	150	12	8	138	92,00

Como podemos apreciar en el cuadro cuatro durante el periodo de investigación se encontraron 12 muestras positivas, las mismas que se encontraron en los parques donde hay mayor concurrencia de personas y mascotas.

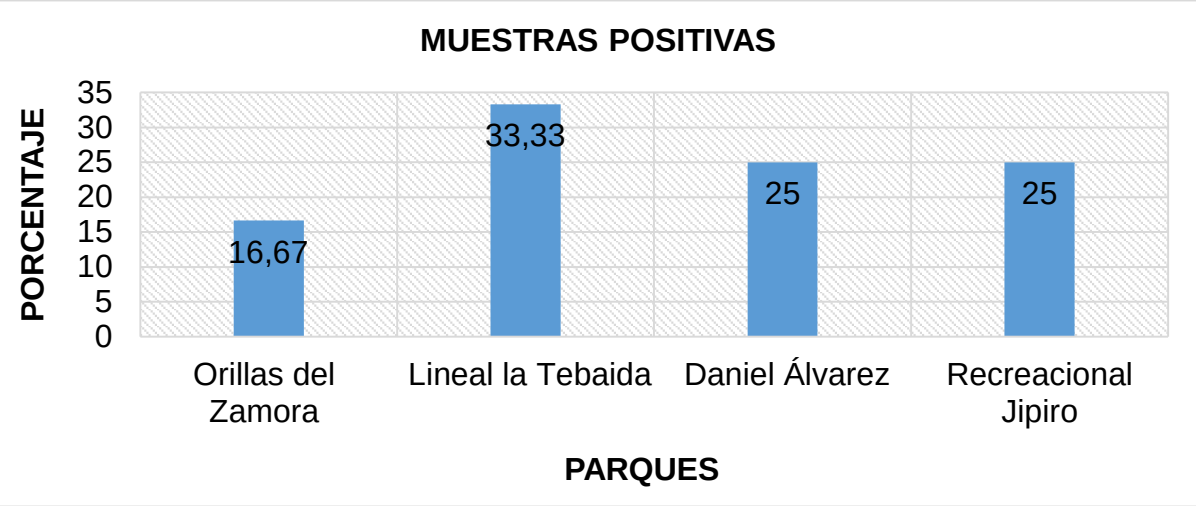

Figura 3. Porcentaje total de muestras positivas a *Campylobacter spp* en muestras de heces de caninas tomadas en los parques de la ciudad de Loja.

4.2. AISLAMIENTO DE LA BACTERIA

Una vez recolectadas las 150 muestras de los parques de la Ciudad de Loja, se procedió a realizar el aislamiento de *Campylobacter spp,* mediante la utilización del método de filtración en la membrana de nitrocelulosa de 0,44 micras. Los resultados se muestran en el cuadro cinco y en la figura cuatro.

Cuadro 5. Diagnóstico de *Campylobacter spp* mediante filtro de membrana de nitrocelulosa (%).

AISLAMIENTO DE LA BACTERIA	TOTAL	POSITIVAS		NEGATIVAS	
		NÚMERO	%	NÚMERO	%
Filtración en la Membrana de Nitrocelulosa	150	12	8	138	92

Como podemos apreciar en el cuadro cuatro, al aplicar en Método de Filtración en la Membrana de Nitrocelulosa a las 150 muestras, se obtuvo un aislamiento de 12 muestras positivas, representándonos un 8%. Mientras que 138 muestras dieron negativo al aislamiento de *Campylobacter spp*, representando un 92 %.

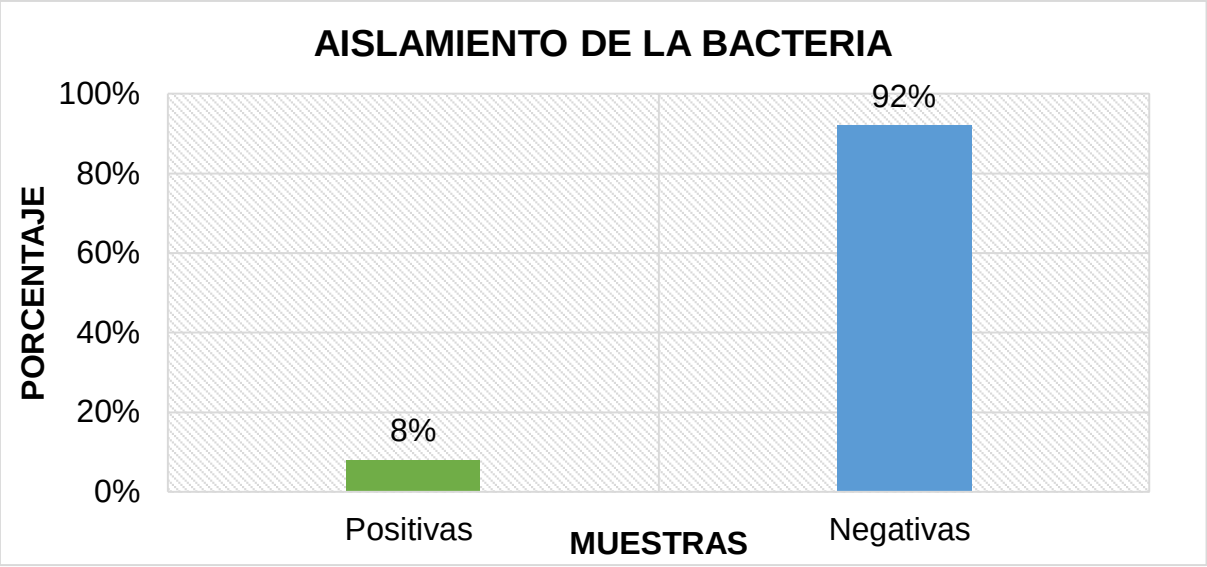

Figura 4. Porcentaje total de muestras positivas y negativas a *Campylobacter spp.*

4.3. COLORACIÓN EN AGAR TCBS

Se determinó al culminar el periodo de incubación (24-48 h), en que se apreció la coloración característica a *Campylobacter spp.* Los resultados se exponen en el cuadro seis y se grafican en la figura cinco.

Cuadro 6. Coloración de colonias en Agar TCBS. En el diagnóstico de *Campylobacter spp.* (%).

COLOR	MUESTRAS	
	NÚMERO	%
Amarillo	12	8
Verde	138	92
Total	150	100

En el cuadro cinco sé puede apreciar que, de las 150 muestras cultivadas, 12 de ellas presentaron una coloración amarilla alrededor de las colonias característica a *Campylobacter spp,* representándonos un 8%, las 138 muestras restantes presentaron una coloración verde, que es característico cuando no hay crecimiento bacteriano, representándonos un 92 % negativo a *Campylobacter spp.*

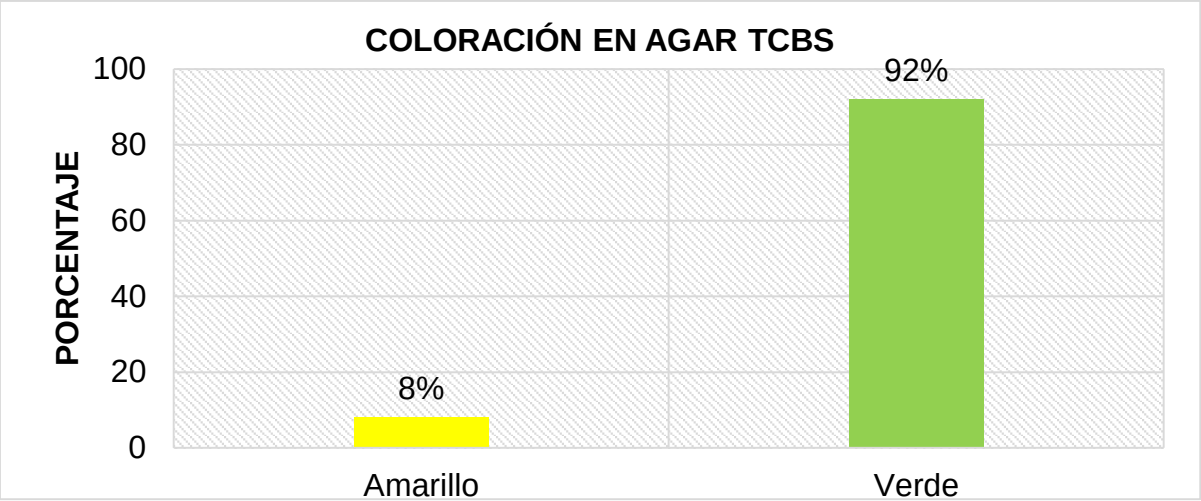

Figura 5. Porcentaje de coloración de colonias en Agar TCBS.

4.4. CRECIMIENTO A 27°C, 37°C Y 42 ° C

Las placas que tuvieron crecimiento de colonias sospechosa a *Campylobacter spp*, se sembraron en placas nuevas con agar TCBS, y se procedió a incubar a 27 °C, 37°C y 42C ° en ambiente de microaerofilia.

Cuadro 7. Temperaturas de incubación para *Campylobacter spp* aislados de muestras de heces de caninos en la ciudad de Loja (°C).

NÚMERO DE MUESTRAS	TEMPERATURA		
	27 °C	37°	42°C
12	0	4	8

El presente cuadro muestra las diferentes temperaturas usadas para evaluar cuál es la temperatura a la que mejor se comporta *Campylobcater spp.* Las muestras con colonias sospechosas a *Campylobacter* se volvieron a sembrar en Agar TCBS, a 27 °C en las no se apreció ningún crecimiento bacteriano, a 37°C, se apreció un crecimiento normal en 4 placas, mientras que en las 8 restantes uno un ligero crecimiento, a 42 °C se evidenció un excelente crecimiento en 8 placas y en las 4

restantes hubo un menor crecimiento, demostrándose así la termotolerancia de *Campylobacter spp.*

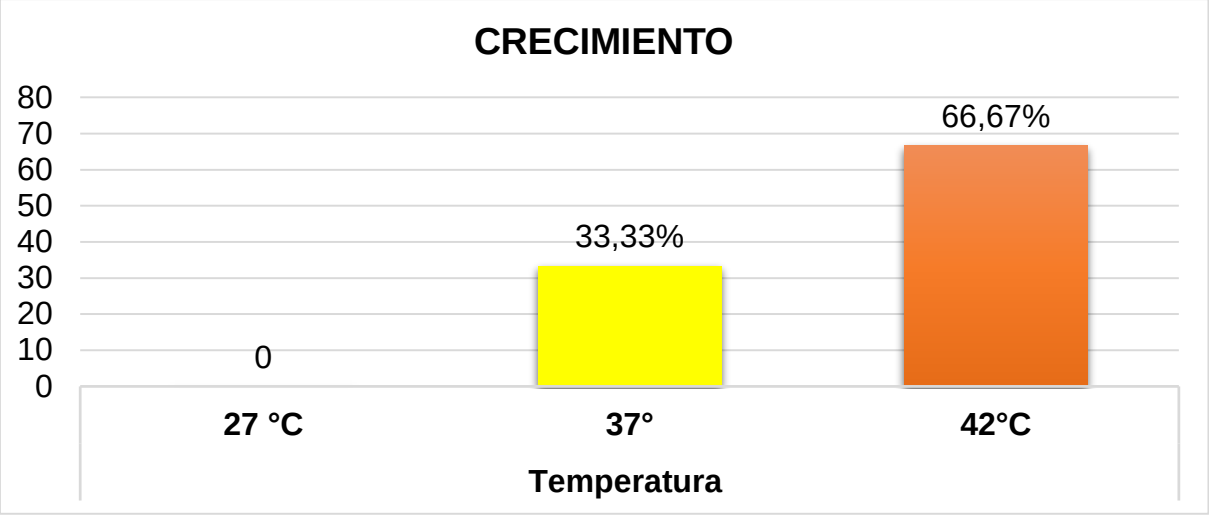

Figura 6. Porcentaje de crecimiento de *Campylobacter spp,* a diferentes temperaturas.

5. DISCUCIÓN

5.1. PRESENCIA DE *Campylobacter spp* EN LOS PARQUES DE LA CIUDAD DE LOJA.

El estudio de *Campylobacter spp,* tiene como finalidad encontrar la prevalencia de la bacteria en heces frescas recolectadas en los diferentes parques de la ciudad de Loja, con los resultados obtenidos se puede tener datos recientes de la contaminación a la cual están sometidos los parques que tienen más afluencia de personas y mascotas, representando un riesgo potencial de contaminación, especialmente niños menores de 3 años y personas con un sistema inmune deficiente, que son más propensos a contaminarse con la bacteria.

Cabe mencionar que *Campylobacter spp,* es una de las principales enfermedades causantes de diarrea aguda, transmitida por alimentos y contacto con animales en el mundo (OMS, 2017).

Un estudio realizado en la ciudad de Loja se encontró una prevalencia del 10% en heces canes recolectadas en los parques recreacional Jipiro y Parque Lineal la Tebaida (Núñez, 2016), Datos similares a nuestro trabajo, encontrando una prevalencia de 8%, al muestrear los diferentes parques públicos que se encuentran en nuestra ciudad.

5.2. AISLAMIENTO DE LA BACTERIA

En el presente estudio se utilizó el método de filtración el agar TCBS con membrana de nitrocelulosa de 0,45 micras, e incubadas por 48 horas a 42 °C en un ambiente de microaerofilia, de las 150 muestras cultivadas en el laboratorio 12 de ellas resultaron positivas dándonos un porcentaje del 8%, las 138 muestras restantes fueron negativas dándonos un porcentaje de 92%.

El método de filtración permitió tener un cultivo puro, que evita utilizar la adición de antibióticos para eliminar la flora bacteriana acompañante, su principal ventaja se debe al diámetro de sus poros que solo permite el paso de *Campylobater spp,*

separándolos del resto de bacterias de la flora microbiana normal presente en las heces de canino.

La prevalencia de *Campylobacter spp* en el presente estudio fue del 8% resultado similar a un estudio realizo en la ciudad Loja. Donde Núñez 2016 al recolectar heces de caninos en los parques Recreacional Jipiro y Lineal la Tebaida, encontró una prevalencia del 10%.

Otro estudio realizado en la ciudad de Quito en La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador, reporta una prevalencia de 14,76 %, resultado que se obtuvo de caninos que visitaban dicha facultad,

Existen otros estudios que muestran datos inferiores a los encontrados, en Argentina de una muestra de 260 perros diagnosticados sanos atendidos en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de la Plata el 7,3 % resulto positivo a *Campylobacter spp,* (Giacoboni, Puchuri, Castellano, Echeverria, y Fernández, 1999).

En Brasil se reportó de 5-8% de muestras positivas a *Campylobacter* procedentes de canes aparentemente sanos (Aquino, Pacheco, Ferreira, y Tibana, 2002).

5.3. COLORACIÓN EN AGAR TCBS

La coloración es uno de parámetros importantes a tener en cuenta cuando se realizan estudios microbiológicos sobre todo en muestras sospechosas a vibrios, en nuestro estudio la coloración en Agar TCBS (tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa) de la 150 muestras que fueron sembradas durante 48 h a una temperatura de 42 °C, 12 presentaron colonias de tamaño mediano planas, no hemolíticas, cremosas y de un color amarillo grisáceo, significando un 8%, esto es debido a la acción de la sacarosa al ser fermentada por la acción de *Campylobacter*, mientras que las 138 muestras restantes no se apreció cambio de coloración de la placas, resultando negativas en 92 % a *Campylobacter spp.*

Manzanillas 2012, realizó un estudio en caninos que presentaban trastornos gastrointestinales y respiratorios que visitaban las clínicas veterinarias de Loja y el Hospital Veterinario de la Universidad Nacional De Loja, donde se encontró una

prevalencia 65,12 % a *Campylobacter spp.* En el mismo estudio se evaluó la coloración de las colonias de *Campylobacter* en agar TCBS, al analizar 43 muestras de las cuales 28 de ella presentaron una coloración amarilla representando un 65.12% de muestras positivas a *Campylobacter spp,* las 15 muestras restantes presentaron una coloración verde representado un 34.88 % a muestras negativas en dicho estudio (Manzanillas, 2012).

5.4. CRECIMIENTO A 27°C, 37°C Y 42 °C

En el presente estudio se evaluó el crecimiento de *Campylobacter spp* en diferentes temperaturas teniendo tres resultados; las 12 muestras sembradas e incubadas a 27 °C durante 48 h no reportaron crecimiento, de las 12 muestras sembradas e incubadas a 37 °C, 4 de ellas presentaron un crecimiento normal mientras que los 8 restantes tuvieron un ligero crecimiento. A 42 °C durante 48 h de las mismas 12 muestras positivas, 8 tuvieron un excelente crecimiento y los 4 restantes tuvieron un crecimiento normal.

Con estos resultados podemos confirmar que *Campylobacter spp,* puede crecer a temperaturas entre 37 °C y 42° C en un lapso de 48 h, sin embargo, a 42 °C se tiene un mejor comportamiento de la bacteria, obteniendo un cultivo con mejor crecimiento y a menor tiempo.

El comportamiento de *Campylobacter spp* en el presente estudio confirmó su termotolerancia, las muestras positivas a *Campylobacter* tuvieron mejor crecimiento a 42 °C que a 37 °C, datos que concuerdan con estudios realizados en Argentina (Giacoboni *et al*., 1999; Pantozzi *et al.,* 2010).

6. CONCLUSIONES

- La prevalencia de *Campylobacter spp,* en heces frescas de caninos recolectadas en los parques de la ciudad de Loja fue del 8% (12/150).
- La coloración presentada por parte de las colonias de *Campylobacter* en agar TCBS en un 8 % fue de color amarillo grisáceo, no hemolíticas y en 92 % fueron de color verde.
- La temperatura de incubación a la que mejor se comportó *Campylobacter spp,* fue a 42 °C, demostrando su termotolerancia.
- El método de filtración en agar TCBS utilizando la membrana de nitrocelulosa de 0,45 micras, permitió obtener un cultivo puro, al que no es necesario la adición de antibióticos para eliminar la flora entérica acompañante.

7. RECOMENDACIONES

- Ampliar programas estudios epidemiológicos para *Campylobacter spp,* en todo el país, que permitan tener un panorama más claro de la situación actual de la enfermedad en nuestro país.
- Implementar programas de control y vigilancia a las personas que tienen mayor contacto con animales de compañía y producción, que permita reducir los factores de contaminación.
- La presencia de *Campylobacter* en los parques de la ciudad de Loja que tienen mayor afluencia de personas y mascotas, plantean la necesidad de fortalecer la vigilancia y control de *Campylobacter spp.* Al considerar que los animales de compañía son reservorios y portadores del patógeno. El contacto con estos animales podría constituir un factor de riesgo de contraer la infección por *Campylobacter spp.*

8. BILIOGRAFÍA

Andrade, S. (2017). Determinación de la Prevalencia y Resistencia Antimicrobiana de *Campylobacter spp*. En caninos de las parroquias urbanas de la ciudad de Quito. *UCE*, 40-42.

Arévalo, A (2016). Diagnóstico de las condiciones de manejo de los caninos en la ciudad de Loja y formulación de una propuesta que garantice el bienestar animal (Tesis de grado), UNL, Loja, Ecuador.

Aquino M, P. A. (2002). Frequency of isolation and identification of termophilic campylobacters fron animals in Brazil. *NCBI*, 159-161.

Cervantes, A. G. (2007). *Campylobacter* y Enfermedades Asociadas . *UNAM*, 32-33.

Chanqueo L, P. G. (2005). Evaluación de la Tinción de Hunker para la busqueda rutinaria de *Campylobacter sp* en el estudio de un sindrome diarreico agudo. *Scielo*, 1-3.

Fernández, H. (2011). *Campylobacter* y campylobacteriosis una mirada desde America del Sur. *Perú Med Exp*, 121-127.

Giancoboni, G, P. M. (1999). Identificación mediante biotipos y perfiles proteicos de *Campylobacter* aislados de perros. *Scielo*, 1-2.

Gianconboni G, P. M. (1999). *Campylobacter* termotolerantes en menudos y carcasas de pollosprovenientes de diferentes comercios. *Analecta Veterinaria* , 51-54.

Guerry, P. (2007). *Campylobacter* flagella: no solo por motilidad. *NCBI*, 2-5.

Health, T. c. (2005). Campylobacteriosis; Enteritis por *Campylobacter,* Enteritis Vibriónica, Vibriosis. *IOWA STATE UNIVERSITY*, 1-2.

Hernández, C. A. (2013). *Campylobacter jejuni:* ¿una bacteria olvidada? situación en Mexico. Enfermedades Infeccionsas y Microbiología. *Medigraphy*, 77-84.

Kaur T, S. J. (2011). *Campylobacter troglodytis sp,* nov., aislado de la heces de los chimpancés salvajeshumanos (Pan Troglodytis schuweinfurthii) en Tanzania. *AEN*, 10-11.

Lapierre, Lisette (2013). Factores de Virulencia Asociados a Especies Zoonóticas de *Campylobacter spp. Avances en ciencia Veterinarias* , 2-6.

Malbrán, C. (2007). Manual de Procediemientos Aislamiento, identificación y caracterización de *Vibrio cholerae*. *INEI*, 5-20.

Manzanilla, L. (2012). Determinación de la *Presencia de Campylobacter sp*, en perros con sintomatología clínica de diarrea en la clinicas veterinarias de la ciudad de Loja. *UNL*, 56-58.

Medina C, Vinuesa ,J (2015). Cuantificación de *Campylobacter spp.* en un matadero semi-industrial Aves y posterior identificación de especies (C. jejuni C. coli) mediante tecnicas de Diagnostico Molecular. *UCE*, 62-65.

Nuñez, A (2016). Estudio de la prevalencia de especies de *Campylobacter (C. jejuni subsp. jejuni, C. coli)* en animales de corral y perros del sur del ecuador. *UTPL*, 30-33.

OMS. (2017). *Campylobacter. WHO*, 2-3.

Murray, P. (2014). *Microbiología Médica.* España: ISBN.

Platts, Kosek, J. A. (2015). Actualización sobre la carga de *Campylobacter* en los paises en desarrollo. *NCBI*, 4-6.

Romero, C. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. En R. R. Cabello, *Microbiología y Parasitología Humana* (págs. 826-829). Argentina: Medica Panamericana.

Rosisi Antonella, C. C. (2017). Campilobacteriosi asociada a consumo de alimentos: impacto en la salud pública. *unicen*, 12-18.

Silva J, L. D. (2011). Campylobacter spp. como un patogeno transmitido por los alimentos: una revisión. *Frontiers Microbiology*, 3-5.

Tamborini Ana, C. L. (2012). *Campylobacter spp:* prevalencia y caracterización feno-genotipica de aislamientos de pacientes con diarrea y de sus mascotas en la provincia La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 268-270.

Torralbo, A. (2013). *Campylobacter sp. en granjas y matadero de broilers y perros domésticos en Andalucía: estudio microbiologico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana.* Córdova: UCO.

Vasco, K. (2015). Zoonotic Transmission of *Campylobacter jejuni* and Atipical Enteropathogenic Escherichia coli (aEPEC) in peri-urban Quito. *USFQ*, 40-45.

9. ANEXOS

9.1. FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE CAMPO

Foto 1. Recolección de muestras en los parques de la ciudad de Loja

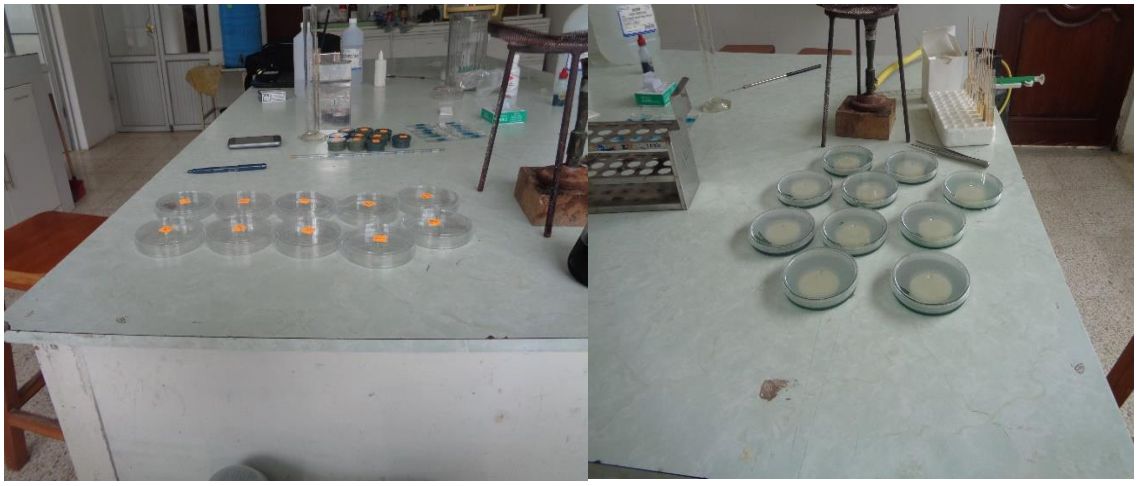

Foto 2. Preparación de placas con Agar TCBS, y filtración de muestras.

Foto 3. Colocación de sobres generadores de Anaerobiosis (Campy Gen) e incubación.

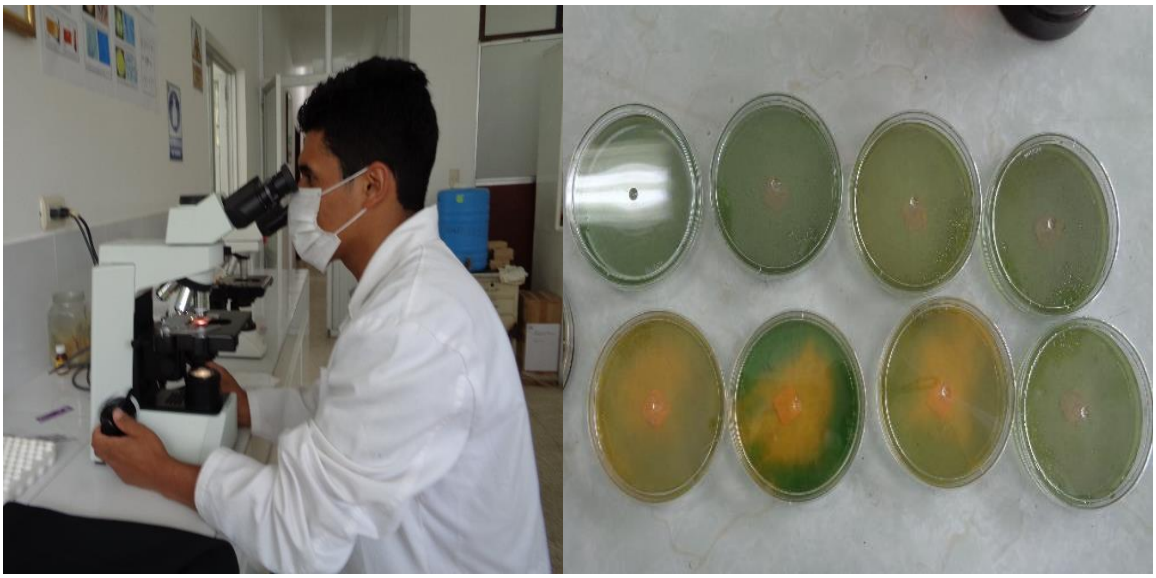

Foto 4. Placas con crecimiento positivo a Campylobacter spp.

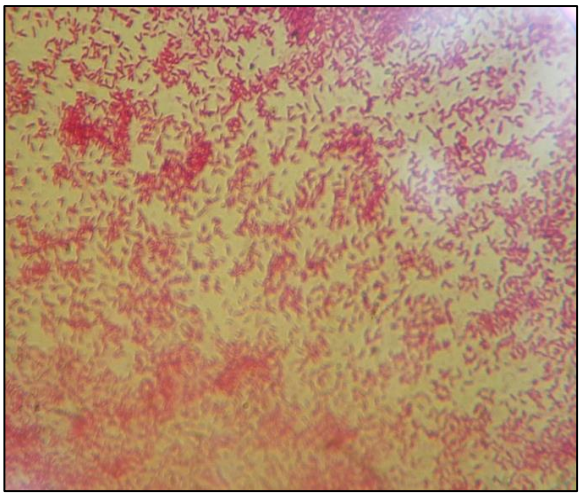

Foto 5. Socialización de los resultados con estudiantes de tercer ciclo de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.