

# Comparación de los distintos tipos de muestras para el aislamiento de *Campylobacter* spp. durante el periodo de cría en explotaciones de broiler

M. COLVÉE<sup>1</sup>, S. INGRESA<sup>1</sup>, F. MARCO-JIMÉNEZ<sup>2</sup>, P. CATALA<sup>3</sup>, S. VEGA<sup>1</sup> Y C. MARIN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas. Departamento de Producción Animal, Sanidad Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad CEU-Cardenal Herrera, C/, Tirant Lo Blanc 7, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, España. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, C/ Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, España. <sup>3</sup>Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana (CECAV), C/ Nules 16, 12539 Alquerías del Niño Perdido, Castellón, España.

\*E-mail: clara.marin@uch.ceu.es

---

*Campylobacter* es la bacteria que más casos de gastroenteritis humana produce en Europa, llegando a afectar a más 220.000 personas al año. La principal fuente de contagio para las personas es el consumo de carne de ave poco cocinada. Es por eso que un buen control de esta bacteria a nivel de la producción primaria es fundamental para reducir el número de casos de campilobacteriosis humana. Para la detección de esta bacteria a nivel de campo, se han utilizado distintos tipos de muestreos, sin embargo hoy por hoy no hay ninguno óptimo. En este contexto, el objetivo de este estudio es investigar a nivel de campo la influencia que tienen los distintos tipos de muestras sobre la detección de *Campylobacter* a lo largo del periodo de producción. Para ello se muestrearon un total de 21. La toma de muestras se realizó los días (1, 7, 14, 21, 28, 35 y 42). A lo largo del ciclo productivo se recogieron y analizaron cuatro tipos de muestras diferentes: calzas, heces recogidas directamente de la cama, hisopos cloacales y contenido cecal. Todas las muestras fueron analizadas según la norma ISO 10272-1:2006 y por cultivo directo en mCCDA. Los resultados de este estudio muestran que a día 7, las únicas muestras capaces de detectar la bacteria fueron los hisopos cloacales y las muestras de ciegos, mientras que a partir del día 14 la bacteria se aisló en todos los tipos de muestras. A partir del día 21, la detección fue aumentando progresivamente hasta el final de ciclo productivo. A la salida de los animales a matadero, el porcentaje de positivos a *Campylobacter* era del 71.4% de las muestras cecales, 62.9% de hisopos cloacales, 69.1% las muestras fecales y 45.2% de las calzas. Independientemente de que las muestras se sembraran por cultivo directo o se pre enriquecieran siguiendo la norma ISO, se obtuvo la misma capacidad de detección a lo largo del estudio. La especie más aislada en este estudio fue *C.jejuni* (73.6%), la principal especie productora de campilobacteriosis en el ser humano.

---

**Palabras claves:** *Campylobacter* spp; muestras; broilers

---

*Campylobacter* is the most common bacteria that produce gastroenteritis in Europe, affecting more than 220.000 people every year. The main source of contamination for people is the consumption of avian meat not well cook. For that reason, a good control of these bacteria in the primary production is essential to reduce the number of human campilobacteriosis cases. For the detection of these bacteria at farm level, different types of samples had been used; however there is not an optimum yet. In this context, the aim of this study is to assess the influence of the sample type across the rearing period for the detection of *Campylobacter* spp. at farm level. A total of 21 houses were sampled. Samples were taken on the following dates: 1,7,14,21,28,35 and 42. Four types of samples were taken during the entire rearing programme, including faeces with sock swabs (sock swabs), faeces directly from the litter (faeces), cloacal swabs and caecal

content. All samples were analysed according to ISO 10272-1:2006 and also by direct culture. The results of this study showed that *Campylobacter* spp. was detected in all of the sample types on day 14 of rearing. From this point on, the detection increased significantly during rearing, with a maximum detection rate by the end of rearing, regardless of the sample type. All samples that were negative for direct culture were also negative after pre-enrichment. At the end of rearing, the percentage of *Campylobacter* spp. positive samples was 71.4% for caecal samples, 61.9% for cloacal swabs, 69.1% for faecal samples and 45.2% for sock swabs. This study shows that there were no differences in the detection of the bacteria between the samples directly cultured or the ones pre enriched following the ISO. *C. jejuni* was the specie most isolated (73.6%), being one of the main producers of campylobacteriosis in human.

---

**Keywords:** *Campylobacter* spp; samples; Broilers

## Introducción

*Campylobacter* es la causa más común de gastroenteritis en humana llegando a producir alrededor de 220.000 casos al año (EFSA, 2013). *C.jejuni* es la especie que produce la mayoría de los casos, pero también se ha relacionado a la especie *C.coli* con casos graves en humanos (Gillespie et al., 2002; Tam et al., 2003; Sopwith et al., 2010).

La principal fuente de infecciones alimentarias en humanos por *Campylobacter* proviene de los productos precedentes de la avicultura, siendo la carne de pollo la más importante (EFSA, 2013). Es por eso que un buen control sobre la producción primaria del broiler es muy importante a nivel de Salud Pública para reducir el número de campylobacteriosis humana (Anonymus, 2011). Sin embargo, aun habiendo hoy en día distintos tipos de métodos de control para esta bacteria, no existe ninguno óptimo para poder utilizar a lo largo de toda Europa.

Para poder determinar el potencial de intervención que se puede realizar a nivel de campo para reducir la bacteria es necesario monitorizar el estatus de los broiler utilizando adecuados tipos de muestras (Bronzwaer et al., 2009). Hasta ahora las estrategias de intervención estaban basadas en factores de riesgo obtenidos a partir de cuestionarios realizados a nivel de campo (Van de Giessen et al., 1998; Evans and Sayers, 2000; Bouwknecht et al., 2004). La principal desventaja de estos cuestionarios realizados a nivel de campo, es que se utilizo un modelo estadístico asociativo para determinar la relación que había entre los factores de riesgo y la presencia de *Campylobacter* en un lote. Además se basaron en datos cualitativos procedentes del estatus de los pollos frente a *Campylobacter* al final del periodo de producción (Van Gerwe et al., 2005). Sin embargo, estos estudios no tuvieron en cuenta los aspectos dinámicos sobre la infección por esta bacteria en un lote (Van Gerwe et al., 2005). Es importante tener un conocimiento cuantitativo sobre la transmisión de *Campylobacter* para poder desarrollar programas de control y al mismo tiempo poder intentar determinar el momento de introducción de la bacteria en un lote comercial de broiler bajo las condiciones de campo (Shanker et al., 1990; Heres et al., 2004).

Además, no existe aún ningún método óptimo para la detección y aislamiento de *Campylobacter* a nivel de campo (Vidal et al., 2012) Para el desarrollo de un protocolo correcto para la detección de la bacteria a nivel de campo será necesario tener en cuenta cuales son el tipo de muestra, el método de toma de muestras, las condiciones del transporte y los protocolos de laboratorio óptimos. Actualmente para detectar la bacteria en las naves de broiler se utilizan distintos tipos de muestras, entre ellas están los hisopos cloacales (Hansson et al., 2004), las muestras de heces (Sandberg et al., 2006), el contenido cecal (Allen et al., 2007; Rosenquist et al., 2009) y las calzas (Bull et al., 2006; Ridley et al., 2011; Vidal et al., 2012). Sin embargo, hasta lo que nosotros sabemos, la interacción entre los distintos tipos de muestras y la detección de la excreción de *Campylobacter* durante el periodo de producción no ha sido estimado.

Es por esta razón que el objetivo de este estudio fue detectar la influencia del tipo de muestra tomada durante el periodo de producción sobre la detección de *Campylobacter* a nivel de campo.

## Material y Métodos

El comité de ética y bienestar animal de la Universidad CEU Cardenal Herrera aprobó este estudio. Todos los animales fueron tratados de acuerdo con los principios de cuidado animal publicados por el Real Decreto Español 52/2013 (BOE, 2013).

Desde Marzo hasta Agosto del 2013, 21 explotaciones de broiler fueron muestreadas. Sólo una nave de cada explotación fue muestreada. Para poder formar parte de este estudio, las explotaciones debían ser de broiler con carácter comercial y con sistema de cría en suelo. Cada explotación fue visitada y muestreada en distintas etapas de la producción. La primera visita se realizó justo antes de la entrada de los pollitos de un día (día 1), luego cada explotación se visitó semanalmente hasta el día en que los animales se enviaron a matadero (días 7, 14, 21, 28, 35 y 42).

Antes de la llegada de los pollitos de un día, para averiguar el estado de contaminación de la nave frente a *Campylobacter*, se tomaron muestras de superficies, de agua (una muestra del tanque y otra del final de la línea de bebederos), del pienso y de las botas del granjero. Las muestras de las botas y de las superficies se cogieron con una con toallita húmeda estéril (AES laboratorios<sup>®</sup>, Bruz Cedex, Francia). Las muestras de agua se cogieron en cantidad de 500 mL, al llegar al laboratorio estas fueron homogenizadas y se analizó 25mL de cada muestra. Para el análisis del pienso, en la explotación se cogieron 500 g, en el laboratorio se homogenizaron y 25 g fueron analizados. Si una o más muestras de las tomadas antes de la entrada de los animales eran positivas a la bacteria, esta nave era declarada positiva a *Campylobacter* y descartada del estudio. Cuando los pollitos de un día llegaban a la nave, 10 pollitos eran sacrificados para la obtención de contenido cecal y así poder determinar el estatus del lote frente a *Campylobacter*.

Durante el periodo de producción (días 7, 14, 21, 28, 35 y 42) cuatro diferentes tipos de muestras fueron recogidas, calzas, hisopos cloacales, heces de la cama y contenido cecal. Para la recogida de las heces con las calzas la nave era dividida en dos áreas iguales y un par de calzas era utilizado para cada área. Estas muestras eran tomadas caminando por el área correspondiente y cada par de calzas con material fecal se analizaba como una única muestra en el laboratorio. Las muestras de heces eran recogidas directamente de la cama de manera aséptica y llevando guantes estériles (dos botes de 500 g de heces). Las muestras cloacales se tomaban utilizando hisopos cloacales estériles de 10 individuos de cada nave (Cary Blair hisopos estériles, DELTALAB<sup>®</sup>). El hisopo estéril era introducido en la cloaca del animal y luego este rotaba suavemente para poder obtener la muestra. Cada hisopo cloacal fue analizado de manera individual. Finalmente, estos animales eran sacrificados y se obtenía el par de ciegos de cada uno de ellos y estos se introducían en un mismo bote de plástico estéril.

Todas las muestras recogidas, a excepción de los ciegos, se introducían en un bote con medio de transporte semisólido Cary-Blair (CM0519;Oxoid) y luego eran refrigeradas a 5°C y analizadas en menos de 24 h.

Una vez las muestras en el laboratorio el cultivo y análisis de las muestras se realizó siguiendo la norma ISO 12072-1:2006 para la detección de *Campylobacter* spp. Todas las muestras fueron analizadas por cultivo directo, y sólo si este era negativo las muestras pre-enriquecidas eran sembradas. Las muestras de agua se procesaron mezclando 25 mL de muestra con 225 mL de PBS tras luego homogeneizarse. Las muestras de pienso se procesaban homogenizando 25 g y 225 mL de PBS durante 60s en un bolsa de stomacher (Separator 400; Seward, West Sussex, UK) utilizando una máquina de stomacher (Stomacher 400; Seward). Las muestras de superficies y botas se procesaron mezclando la toallita húmeda con 50 mL de PBS y luego homogenizadas. Las muestras de calzas eran mezcladas con 100 mL de PBS y posteriormente homogenizadas. Las muestras de heces se procesaron mezclando 25 g con 225 mL de PBS y posteriormente estas se homogenizaron. Para el análisis de las muestras cecales, cada uno de los 10 pares de ciegos se vaciaban en una placa petri y se homogenizaban. Después, para crear las muestras de pool de ciegos se cogió 0.02 g de cada uno de los contenido cecales de los distintos 10 individuos muestreados en la nave y se mezcló con 2 mL. De todos los tipos de muestras, 10 ul de las muestras alicuotadas se sembraron en Agar mCCDA (modified Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar, CM0736 y SR0155; Oxoid) y en Agar Preston (CM0689, SR0117 y SR0048). Posteriormente las muestras fueron incubadas a 41,5±1°C en atmósfera microaerofílica (44% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 6% O<sub>2</sub>) durante 48 horas, excepto los hisopos cloacales que fueron directamente sembrados en Agar mCCDA y Preston e incubados como las demás muestras.

Además, las muestras fueron pre-enriquecidas en Caldo Bolton 1:10 vol/vol (Oxoid, Dardilly, France) y luego se pre-incubaron a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $5\pm 1$  horas. Finalmente las muestras pre-incubadas se incubaban a  $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $43\pm 1$  horas. Tras la incubación 10 ul de la muestra era sembrado en dos medios selectivos (Agar mCCDA y Preston) y estas placas fueron incubadas a  $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas.

Aquellas colonias características a *Campylobacter* se sembraron en agar sangre y para la confirmación de la bacteria se realizó el test de hipurato y la hidrólisis de indoxil acetato, la producción de catalasa y la susceptibilidad a cefalotina y ácido nalidixico.

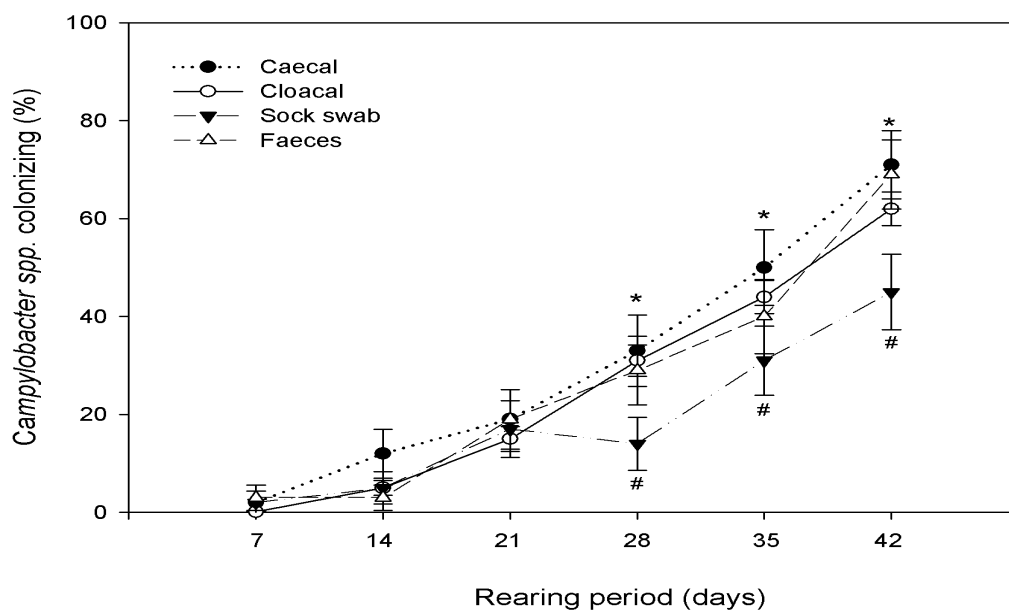
En cuanto a el análisis estadístico, los datos se sometieron a un modelo linear generalizado que asumía una distribución binomial para la colonización de *Campylobacter* para poder determinar si había algún tipo de asociación entre el tipo de muestra utilizada (calzas, heces, hisopos cloacales y contenido cecal) y los aspectos dinámicos (7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de producción). Para este análisis, el error se asignó en función de una distribución binomial y se usó la función probit link. A cada muestra se le añadieron datos binomiales siendo 1 en caso de prevalencia a *Campylobacter* y 0 si no tenía. Binomial data for each sample was assigned a 1 if it had *Campylobacter* prevalence or a 0 if it had not. Se utilizó P valor menor de 0.05 para indicar si había diferencias estadísticamente significativas. Los datos se expresan como medias de mínimos cuadrados  $\pm$  su error estándar. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando un programa de software comercial (SPSS 16.0 software package; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2002).

## Resultados

En el día 1 de producción tanto los pollitos de un día como las muestras ambientales, como las muestras de agua y pienso fueron negativas a *Campylobacter*. En total, 20 explotaciones fueron positivas a la bacteria con al menos un tipo de muestra. Siendo los hisopos cloacales los que detectaron el total de la explotaciones positivas (20). Las muestras de ciegos y las muestras de heces detectaron 17 y 16 explotaciones positivas, respectivamente. Sin embargo, las muestras de calzas sólo detectaron 9 explotaciones como positivas. *Campylobacter* fue detectado por primera vez en una de las explotaciones en el día 7 de producción, pero la bacteria se detectó con todos los tipos de muestras en el día 14 de crianza. Desde este momento hasta el final del periodo de producción la detección aumentó significativamente, con un máximo de detección al final del periodo y sin influir el tipo de muestra.

Todas las muestras que fueron negativas al cultivo directo, también lo fueron después del pre-enriquecimiento. Al final de la crianza, el porcentaje de muestras positivas a *Campylobacter* fue 71.4% para las muestras cecales, 61.9% para los hisopos cloacales, 45.2% para las muestras de calzas y 69.1% para las muestras de heces. La especie más aislada con todos los tipos de muestras fue *Campylobacter jejuni* (73.6%). La detección de la bacteria fue diferente según el tipo de muestra obtenida y el día de producción (día 7, 14, 21, 28, 35 y 42). Sin embargo, la interacción no fue significativa, por ello fue eliminada del análisis.

Como se puede ver en la figura 1, *Campylobacter* no se pudo detectar hasta el día 14 con todos los tipos de muestras. Los resultados positivos para *Campylobacter* sobre el tipo de muestra analizada fueron homogéneos hasta el día 21, presentando los siguientes porcentajes, 19.0% para el contenido cecal, 15.2% para los hisopos cloacales, 16.7 para las calzas y 19.0% para las muestras de heces. Además, el porcentaje de aislamiento de la bacteria depende significativamente del día de producción. También había un efecto significativo sobre el tipo de muestra para el aislamiento de *Campylobacter*. A partir del día 28, se observó un bajada significativa de la detección de la bacteria a partir de las muestras de calzas (14.3%) en comparación con la detección de los otros tipos de muestras (28.6%, 30.9% y 33.3% para las muestra cecales, hisopos cloacales y muestras de heces, respectivamente). Estos resultados coinciden con los del resto del periodo de producción (Figura 1).



**Figura 1** Comparación de los distintos tipos de muestras, muestras de ciegos (Caecal), muestras de hisopos cloacales (Cloacal), muestras de calzas (Sock swab) y muestras de heces (Faeces) que se han utilizado para la detección de *Campylobacter* spp. a lo largo del periodo de producción.

## Discusión

El objetivo de este estudio era comparar el efecto de los distintos tipos de muestras tomadas durante el periodo de producción con la detección de *Campylobacter* en pollos broiler. El control de esta bacteria en la producción primaria es un elemento fundamental a nivel de Salud Pública para conseguir reducir el número de casos de campilobacteriosis humana (Anonymous, 2011). Para poder averiguar si alguna actuación a nivel de campo podría ser efectiva a la hora de controlar la bacteria, es necesario hacer una monitorización del estatus de los broiler frente a *Campylobacter*, y para ello es necesario utilizar sistemas de muestreo adecuados (Anonymous, 2011). Es por eso que para obtener un protocolo correcto para la detección de *Campylobacter* a nivel de campo, es necesario tener en consideración que tipo de muestra es el más óptimo al igual que el método de recolección de las muestras, las condiciones del transporte y también el protocolo para el análisis en el laboratorio (Vidal et al., 2012).

Parece ser que la vía de infección entre los pollitos broiler que se crían intensivamente es la transmisión horizontal (Newell et al., 2011). En este estudio, aunque las muestras ambientales y los pollitos de un día fueron negativos a la bacteria, esta se detectó por primera vez a los 7 días de producción en muestras cecales, muestras de hisopos cloacales y en las muestras de heces. Sin embargo, fue en el día 14 cuando la bacteria se detectó a través de todos los tipos de muestras. Este resultado concuerda con otros estudios relacionados, donde la bacteria es raramente detectada en los pollitos broiler hasta que alcanzan los 14-21 días de edad (Evans and Sayers, 2000; Stern et al., 2001; Bull et al., 2006). Se sabe que los pollitos son negativos a *Campylobacter* cuando están en la incubadora, aunque después, a las 2-3 semanas de edad los pollitos se vuelven positivos a la bacteria (Ridley et al., 2011). Desde este momento hacia delante, la infección se propaga rápidamente entre los individuos del lote y a los 36-42 días de edad, alrededor del 60% están infectados con la bacteria (Evans and Sayers, 2000). Estos resultados coinciden con los obtenidos en este estudio (59.3% de muestras positivas al final del periodo de producción).

Las muestras cecales son las muestras que se toman de manera estándar a nivel de matadero (Anonymous 2007). A diferencia de matadero, para la detección de *Campylobacter* en broiler a nivel de campo se utilizan varios tipos de muestras, incluyendo hisopos cloacales (Hansson et al., 2004; OIE

2008), muestras de heces (Sandberg et al., 2006) y calzas (Vidal et al., 2012). En este estudio, todos los tipos de muestras analizadas tuvieron el mismo nivel de detección hasta el día 21. Sin embargo, las muestras de calzas que se cogieron entre los 28 y los 42 días de producción detectó menor número de positivos en comparación con la muestras de heces, ciegos e hisopos cloacales. Según Vidal et al. (2012), las muestra de calzas humedecidas con medio Cary-Blair son una muestra sensible para la detección de *Campylobacter* spp. en producción de broiler. Aunque en este estudio las muestras fueron humedecidas con medio Cary-Blair, la metodología utilizada fue el cultivo directo de las muestras en placas mCCDA, sin realizar un pre-enriquecimiento previo. Utilizar un pre-enriquecimiento de la muestras antes de cultivarlas en placas normalmente proporciona una mejor recuperación de aquellas bacterias que se encuentran en bajo número, dañadas o estresadas (Richardson et al. 2009; Williams et al. 2009). En este estudio, el sistema de análisis directo sin pre-enriquecimiento ha demostrado la misma eficiencia de aislamiento para la detección de *Campylobacter* en la muestras de heces, ciegos e hisopos cloacales. Sin embargo, algunos autores han sugerido que realizar los dos métodos de cultivo en paralelo (sistema directo y sistema con pre-enriquecimiento) podría aumentar la sensibilidad (Habib et al. 2008; Rodgers et al., 2010). En este estudio, todas la muestras que fueron negativas al cultivo directo, también lo fueron después del pre-enriquecimiento.

En conclusión, las muestras de heces, ciegos e hisopos cloacales sembradas por método directo sin pre-enriquecimiento, han tenido la misma capacidad de detección para *Campylobacter* spp. en broiler independientemente del día de producción. Sin embargo, parece ser necesario realizar más estudios sobre los métodos de siembra utilizados para el aislamiento de *Campylobacter* en broiler, especialmente al principio del periodo de producción.

## Referencias

- ALLEN, V. M., BULL, S. A., CORRY, J. E. L., DOMINGUE, G., JORGENSEN, F., FROST, J. A R., WHYTE, R., GONZALEZ, A., ELVISS, N. y HUMPHREY, J. T. (2007) *Campylobacter* spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonisation. *Int. J. Food Microbiol* **113**: 54–61.
- ANONYMOUS. (2006) ISO 10272 Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff – Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp – Part 1: Detection Method. *International Organisation for Standardisation*, Geneva.
- ANONYMOUS. (2007) Commission Decision 2007/516/EC of 19 July 2007 concerning a financial contribution from the Community towards a survey on the prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. in broiler carcasses to be carried out in the Member States. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:190:0025:0037:EN:PDF> (accessed 20 February 2012).
- ANONYMOUS. (2011) EFSA panel on Biological Hazards (Biohaz). Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J* **9**, 2105.
- BOUWKNEGT, M., VAN DE GIESSEN, A. W., DAM-DEISZ W. D., HAVELAAR, A. H., NAGELKERKE, N. J. y HENKEN A. M. (2004) Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Prev. Vet. Med* **62**:35-49.
- BRONZWAER, S., HUGAS, M., COLLINS, J. D., NEWELL, D. G., ROBINSON, T., MAKELA, P. y HAVELAAR, A. (2009) EFSA's 12th Scientific Colloquium – Assessing health benefits of controlling *Campylobacter* in the food chain. *Int. J. Food Microbiol* **131**: 284–285.
- BULL, S. A., ALLEN, V. M., DOMINGUE, G., JORGENSEN, F., FROST, J. A., URE, R., WHYTE, R., TINKER, D., CORRY, J. E. L., GILLARD-KING, J. y HUMPHREY, T. J. (2006) Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl. Environ. Microbiol* **72**: 645–652.
- EFSA (2013) European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011 *EFSA Journal* **11**: 3129.
- EVANS, S. J. y SAYERS, A. R. (2000) A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler

flocks in Great Britain. *Prev. Vet. Med* **46**:209-223.

**GILLESPIE, I. A., O'BRIEN, S. J., FROST, J. A., ADAK, G. K., HORBY, P., SWAN, A. V., PAINTER, M. J., NEAL, K. R. y SENTINEL, S.** (2002) A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: A tool for generating hypotheses. *Emerg. Infect. Dis* **8**: 937–942.

**HABIB, I., SAMPERS, I., UYTENDAELE, M., DE ZUTTER, L. y BERKVEN, D.** (2008) A Bayesian modelling framework to estimate *Campylobacter* prevalence and culture methods sensitivity: application to a chicken meat survey in Belgium. *J. Appl. Microbiol* **105**: 2002–2008.

**HANSSON, I., ENGVALL, E. O., LINDBLAD, J., GUNNARSSON, A. y VAGSHOLM, I.** (2004) Surveillance programme for *Campylobacter* species in Swedish broilers, July 2001 to June 2002. *Vet. Rec* **155**: 193–196.

**HERES, L., ENGEL, B., URLINGS, H. A., WAGENAAR, J. A. y VAN KNAPEN, F.** (2004) Effect of acidified feed on susceptibility of broiler chickens to intestinal infection by *Campylobacter* and Salmonella. *Vet. Microbiol* **99**:259-267

**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.** (2001) Biosecurity-based interventions and strategies to reduce all *Campylobacter* spp. on poultry farms. *Appl Environ Microbiol* **77**:8605-14.

**OIE.** (2008). Fowl typhoid and pullorum disease. In: Terrestrial Manual. Office International des Epizooties (OIE), Paris, France. pp. 538-548.

**RICHARDSON, L.J., COX, N.A., BAILEY, J.S., BERRANG, M.E., COX, J.M., BUHR, R.J., FEDORKA-CRAY, P.J. y HARRISON, M. A.** (2009) Evaluation of TECRA broth, Bolton broth, and direct plating for recovery of *Campylobacter* spp. from broiler carcass rinsates from commercial processing plants. *J. Food Prot* **72**:972-977.

**RIDLEY, A., MORRIS, V., GITTINS, J., CAWTHRAW, S., EDGE, S. y ALLEN, V.** (2011) Potential sources of *Campylobacter* infection on chicken farms: contamination and control of broiler-harvesting equipment, vehicles and personnel. *J. Appl. Microbiol* **111**: 233–244.

**RODGERS, J. D., CLIFTON-HADLEY, F. A., MARIN, C. y VIDAL, A. B.** (2010) An evaluation of survival and detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broiler caecal contents using culture-based methods. *J. Appl. Microbiol* **109**: 1244–1252.

**ROSENQUIST, H., BENGTSSON, A. y 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). *Int. J. Food Microbiol* **118**: 201–213.

**SANDBERG, M., OSTENSVIK, O., AUNSMO, A. L., SKJERVE, E. y HOFSHAGEN, M.** (2006) An evaluation of sampling and culturing methods in the Norwegian action plan against *Campylobacter* in broilers. *Int. J. Food Microbiol* **106**: 313–317.

**SHANKER, S., LEE, A. y SORRELL, T. C.** (1990) Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. *Epidemiol. Infect.* **104**:101-110.

**SOPWITH, W. A., BIRTLES, M., MATTHEWS, A., FOX, S., GEE, S., JAMES, J., KEMPSTER, M., PAINTER, V., EDWARDS-JONES, K., OSBORN, M., REGAN, Q., SYED. y BOLTON, E.** (2010) Investigation of food and environmental exposures relating to the epidemiology of *Campylobacter coli* in humans in Northwest England. *Appl. Environ. Microbiol* **76**: 129–135.

**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. y MEAD, G. C.** (2001) Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *J. Food Prot* **64**:1705-1710.

**TAM, C. C., O'BRIEN, S. J., ADAK, G. K., MEAKINS, S. M. y FROST, J. A.** (2003) *Campylobacter coli*—an important foodborne pathogen. *J. Infect* **47**: 28–32.

**VAN DE GIESSEN, A. W., J. J. TILBURG, W. S. RITMEESTER. y VAN DER PLAS, J.** (1998) Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect* **121**:57-66.

**VAN GERWE, T. J., BOUMA, A., JACOBS-REITSMA, W. F., VAN DEN BROEK, J., KLINKENBERG, D., STEGEMAN, J. A. y HEESTERBEEK, J.** (2005) Quantifying transmission of *Campylobacter* spp. among broilers. *Appl Environ Microbiol* **71**(10):5765-70.

**VIDAL AB, RODGERS J, ARNOLD, M. y CLIFTON-HADLEY, F.** (2013) Comparison of

different sampling strategies and laboratory methods for the detection of *C. jejuni* and *C. coli* from broiler flocks at primary production. *Zoonoses Public Health* **60**:412-25.

**WILLIAMS, L. K., JØRGENSEN, F., GROGONO-THOMAS, R. y HUMPHREY, T.J.** (2009) Enrichment culture for the isolation of *Campylobacter* spp: Effects of incubation conditions and the inclusion of blood in selective broths. *Int. J. Food Microbiol* **130**:131-134.