

PRESENCIA DE *Campylobacter* spp EN CANALES Y CIEGOS DE POLLOS DE ENGORDE EN LIMA, PERÚ

PRESENCE OF *CAMPYLOBACTER* SPP IN POULTRY MEAT AND CECUM IN LIMA, PERU

Juan Lucas L.^{1,2}, Miguel Vilca L.¹, Daphne Ramos D.¹

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la presencia de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos de engorde comercializados en Lima Metropolitana a través de tres centros de beneficio clandestino. Se muestrearon 90 aves, obteniendo 30 muestras de ciego y 60 muestras de enjuagues de canales. Las muestras fueron sembradas directamente en medio selectivo mCCDA, a 42 °C por 48 h en atmósfera microaerofílica y se usaron pruebas bioquímicas para confirmar las especies termotolerantes. El 16.7% de las canales fueron positivas a *Campylobacter* spp, donde el 60% fue con *C. jejuni* y 40% con *C. coli*. Además, el 26.7% de muestras de ciego fueron positivas, siendo el 72.7% a *C. jejuni* y 27.2% a *C. coli*.

Palabras clave: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, centros de beneficio clandestino, superficie de canales, ciego

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of *Campylobacter* spp in meat and cecum of broilers sold in three illegal abattoirs in Lima, Peru. For this purpose, 90 broilers were selected, collecting 60 samples of body carcasses by the rinse method and 30 samples of cecum. The samples were cultured in mCCDA agar at 42 °C for 48 h under microaerophilic atmosphere, and biochemical tests were used to identify thermotolerant *Campylobacter* species. The results showed that 16.7% of carcasses were positive, where 60% were *C. jejuni* and 40% *C. coli*. In cecum samples, 26.7% were positive to *Campylobacter* spp, where 72.7% were *C. jejuni* and 27.2% *C. coli*.

Key words: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, illegal abattoirs, surface carcasses, caeca

¹ Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

² E-mail: jrlucas.pe@gmail.com

Recibido: 9 de abril de 2012

Aceptado para publicación: 17 de febrero de 2013

INTRODUCCIÓN

La campylobacteriosis es una enfermedad zoonótica causante de gastroenteritis humana, cuya incidencia reporta las mayores tasas entre las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). El agente causal es una bacteria termotolerante del género *Campylobacter*. Más del 90% de las infecciones por este género corresponden a *Campylobacter jejuni* y entre 5 a 10% a *Campylobacter coli* (Adedayo y Kirkpatrick, 2008). La dosis infectiva en el humano es baja (Robinson, 1981) y las secuelas de la infección son potencialmente serias. En el Perú, el *C. jejuni* tiene un importante rol como agente etiológico causante de diarrea aguda acuosa en niños (Murga *et al.* 1993; Perales *et al.*, 2002; Oberhelman *et al.*, 2003).

El *Campylobacter* está presente en el tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente. Se encuentra como comensal sin manifestar síntomas en el hospedador y es excretado de manera continua en heces. Sus principales reservorios lo constituyen los animales de abasto, roedores, animales de compañía, productos marinos, agua contaminada y productos vegetales en contacto con la materia fecal (Park *et al.*, 1991).

Estudios epidemiológicos y moleculares han demostrado que la mayoría de los casos de infecciones humanas por *Campylobacter*, los de tipo esporádico, tienen como principal factor de riesgo a la carne de pollo, ya sea por su consumo insuficientemente cocido o por la contaminación cruzada de otros alimentos, o por el contacto directo o indirecto con esta carne cruda durante el manejo, preparación y consumo (Friedman *et al.*, 2004; Humphrey *et al.*, 2007; Lindmark *et al.*, 2009; Suzuki y Yamamoto, 2009; EFSA, 2010).

La enfermedad también se encuentra asociada al enorme consumo de esta ave. En Bélgica, durante la prohibición de la comercialización de carne de pollo en 1999, hubo una reducción del 40% de los casos de

campylobacteriosis humana, incidencia que se elevó una vez levantada la prohibición (Vellinga y Van Loock, 2002). En el Perú, y en especial en Lima, la población tiene una demanda cada vez mayor de carne de pollo, siendo actualmente la principal fuente proteica (27.6 kg de carne por habitante al año), lo que se refleja en el crecimiento de la producción avícola (MINAG, 2010).

El *Campylobacter* spp como causa de enteritis humana está bien establecido; sin embargo, en los países en desarrollo no están bien esclarecidas las vías de transmisión (WHO, 2000). Por ello, las investigaciones recientes están dirigidas a entender la forma de transmisión del *Campylobacter* en la cadena de alimentos para consumo humano. En el Perú se dispone de estudios que señalan la presencia de *C. jejuni* como causante de enfermedades gastroentéricas en la población susceptible (Murga *et al.*, 1993; Perales *et al.*, 2002; Oberhelman *et al.*, 2003), aunque aún no se ha dimensionado el real problema en la Salud Pública en la región (Fernández, 2011). Para poder evaluar el riesgo de contraer una infección a través de la carne de pollo, se precisa primeramente determinar la presencia del patógeno. El presente trabajo identifica los *Campylobacter* termófilos presentes en el ciego y canales de los pollos de carne en los principales centros de acopio de Lima que fungen de centros de beneficio no autorizados en Lima, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Muestras

Se colectaron al azar muestras de canales y ciegos de pollos beneficiados en tres centros de acopio de Lima Metropolitana (ubicados en los distritos de mercado de Lima, San Luis y San Martín de Porres), durante junio a setiembre de 2009. Según la normativa vigente, estos centros deben cumplir las características sanitarias adecuadas para la distribución y comercialización de las aves

vivas; sin embargo, estos centros fungen, además, como centros de beneficio sin contar con estándares higiénico-sanitarios adecuados. Solo una pequeña proporción de los pollos que se consumen en Lima son beneficiados en centros autorizados (Málaga, 2011), y fue por ello que las muestras fueron colectadas en estos grandes centros de acopio que benefician las aves en forma clandestina.

El tamaño de muestra se obtuvo utilizando la fórmula para poblaciones infinitas (Daniel, 1996) con un nivel de confianza del 90%, usando 82.3% ($d=0.1$) y 37% ($d=0.15$) como prevalencia de referencia para canales (Suzuki y Yamamoto, 2009) y heces (Tresierra-Ayala *et al.*, 1996) de pollos, resultando en un mínimo de 40 y 29 muestras, respectivamente. Semanalmente, por un periodo de cinco semanas, y siempre al inicio de la faena, se tomaron tres muestras de cada centro de acopio (un ciego y dos canales), procurando tomar aves de diferentes lotes.

Las canales se guardaron en bolsas plásticas donde se les remojó y masajó manualmente por 2 minutos con 150 ml de agua peptonada al 0.1% (método del enjuague), y esta solución de enjuague fue vertida en envases estériles. Asimismo, los ciegos fueron cortados con tijeras, inmediatamente después del proceso de eviscerado, y colocados en una bolsa plástica. Los envases y las bolsas con los ciegos fueron transportados al laboratorio en una caja térmica con hielo (4-8 °C).

Aislamiento e Identificación Bioquímica

Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de de Salud Pública y Salud Ambiental, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Se extrajo una alícuota de 0.1 ml de la solución de 150 ml donde fue enjuagada cada canal y se sembró en el medio selectivo, según lo descrito por Kuana *et al.* (2008), método recomendado por otros investigadores (Lindmark *et al.*, 2009). Los ciegos fueron incididos longitudinalmente, la mucosa fue friccionada con un hisopo estéril

y se frotó sobre el medio selectivo a modo de sembrado.

Se empleó el medio *Campylobacter* Blood-Free selective agar base (mCCDA, OXOID), suplementado con antibióticos (*Campylobacter* growth supplement, Oxoid), incubado a 42 °C por 48 h, en atmósfera microaerofílica, usando un kit comercial (CampyGen™, OXOID) (Donnison, 2003; Kuana *et al.*, 2008). Las colonias grisáceas, planas y que pueden tener brillo metálico son típicas de *Campylobacter*, considerándose como colonias positivas aquellas que además de ser Gram negativas, presentaban forma de espiral o de «S» al observarse en el microscopio. Las colonias de *Campylobacter* spp fueron tipificadas mediante pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa, hidrólisis de hipurato e hidrólisis del indoxil acetato, así como con pruebas de sensibilidad en placa al ácido nalidíxico y cefalotina (Donnison, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de *Campylobacter* spp fue de 16.7 y 26.7% en las canales y en los ciegos de pollos, respectivamente. Asimismo, el 60 y 73% de las muestras positivas en canales y ciego correspondieron a *C. jejuni* y el resto a *C. coli* (Cuadro 1).

Actualmente en el Perú, 400 millones de aves son producidas y consumidas al año y, aunque no existen reportes oficiales al respecto, los expertos calculan que el 75% de la producción se beneficia en centros de matanza no autorizados o clandestinos y en forma artesanal en los mercados del país (Málaga, 2011).

La presencia de *Campylobacter* en muestras de carnes dentro de las países de la Comunidad Europea es muy variada presentándose valores altos (>20%) en seis países (EFSA, 2010). Suzuki y Yamamoto (2009) indican que la prevalencia de *Campylobacter* spp en carne de pollo es usualmente elevada

Cuadro 1. Frecuencia de muestras de canales y vísceras intestinales de pollo a *Campylobacter* spp obtenidas de tres centros de acopio de aves en Lima Metropolitana (2009)

Muestras	Total de muestras	Positivas a <i>Campylobacter</i>		Positivas a <i>C. jejuni</i> (n)	Positivas a <i>C. coli</i> (n)
		n	%		
Canales	60	10	16.7	6	4
Ciego	30	8	26.7	6	2

(>50%), a diferencia de otras carnes y otros alimentos de consumo común, donde las frecuencias son mínimas (EFSA, 2010).

La frecuencia de *Campylobacter* spp obtenida en canales fue similar a reportes de 15% en centros de beneficio en Dinamarca, y al 13-14% en carne de pollos de engorde vendidos en mercados de España y Holanda, respectivamente (EFSA, 2010). Sin embargo, existen diversos reportes con tasas mayores (Suzuki y Yamamoto, 2009; EFSA, 2010), teniéndose numerosos factores que afectan la prevalencia de *Campylobacter*. Asimismo, la uniformidad de lote es un parámetro que refleja el buen estado de salud a nivel de granja, y es un factor de protección contra contaminación de la carne con *Campylobacter* (Malher *et al.*, 2011). La mejora de las prácticas de faenamiento es otra forma de mitigar *Campylobacter* en las canales; no obstante, en centros de beneficio con sistemas HACCP implementados se han detectado prevalencias elevadas de este patógeno (EFSA, 2010).

Se ha demostrado que las canales de aves beneficiadas al inicio del día, resultan protegidas de contaminación cruzada con *Campylobacter* desde otros lotes. Además, la cadena de procesamiento se presenta limpia y desinfectada antes de iniciar el beneficio del día. La matanza realizada a temperatura ambiental con un máximo de 15 °C (du-

rante los meses fríos) se relaciona con un menor porcentaje de prevalencia de *Campylobacter* en la carne (Hue *et al.*, 2010); asimismo, la edad del ave, el tipo de ave (mayor prevalencia en pollos orgánicos o criadas extensivamente), el método analítico, y el centro de beneficio (en Europa varían entre 4.9 a 100%), afectan las tasas de prevalencias (EFSA, 2010; Hue *et al.*, 2010). En el presente trabajo, las muestras fueron tomadas en los primeros minutos de iniciada la matanza y en horas de madrugada, donde la sensación térmica fue baja, y donde las aves que llegaban al centro presentaban un aparente buen estado de salud (lotes uniformes).

Existe una presencia mayor del *C. jejuni* en los alimentos con respecto a las demás especies del género, lo cual concuerda con los resultados del presente estudio; sin embargo, *C. coli* ha sido más frecuentemente aislado en Sudamérica, lo que hace posible que exista una vinculación del medio ambiente y el consumo de alimentos con la mayor frecuencia de aislamiento de *C. coli* como agente de diarrea en esta región (Fernández, 2011).

La tasa de aislamiento encontrado en el hisopado de ciego representa también un riesgo potencial de contaminación para los consumidores. El EFSA (2010) establece que la frecuencia de *Campylobacter* en las heces está entre un 20-25 %, aunque se han repor-

tado en niveles superiores (Di Ginnatale *et al.*, 2010). En el Perú, Tresierra-Ayala *et al.* (1996), observaron frecuencias de aislamientos de *Campylobacter* spp de 37% en heces de aves criadas en Iquitos.

Se ha demostrado que el porcentaje de canales positivas a *Campylobacter* están en relación a la cantidad de positivos a nivel de granja. La presencia del agente en el contenido intestinal está relacionada a una serie de factores, principalmente los vinculados a las prácticas de crianza. Además, se sabe que la contaminación aumenta con la edad del ave (Hue *et al.*, 2010). Una disminución del microorganismo en las heces reduciría enormemente la presentación de la zoonosis en el hombre (Malher *et al.*, 2011).

La campylobacteriosis como problema de salud pública en los países en desarrollo se presenta principalmente por alimentos mal procesados, pobremente preparados o preparados con deficiencias en higiene y sanidad. Las ETA se presentan con elevada frecuencia, afectando especialmente a los sectores de bajos recursos y a los grupos más susceptibles (ancianos, niños e inmunosuprimidos), en parte debido a la falta de conocimientos técnicos básicos sobre las buenas prácticas de manufactura (FAO, 2009). Es así que el *Campylobacter* en estos países es un frecuente agente etiológico de diarrea en niños menores de dos años (Black *et al.*, 1989).

Puesto que la dosis infectiva de *Campylobacter* es pequeña, la limpieza común de las superficies con agua y detergente no elimina el riesgo de contaminación cruzada en la cocina (Cogan *et al.*, 1999). Estudios indican que muestras positivas a *Campylobacter* en superficies de mesas, tablas de picar, platos y manos son transferidas desde la carne cruda de pollo durante su preparación (de Boer y Hahné, 1990). También se ha demostrado la contaminación cruzada desde carne cruda de pollo hacia tablas de picar y desde estas hacia vegetales de consumo crudo como lechugas y pepinos, a pe-

sar del uso de desinfectantes para limpiar las tablas de picado posterior al cortado de carne (Zhao *et al.*, 1998). Resultados similares obtuvieron Cogan *et al.* (1999) cuando muestrearon tablas de picar, superficies de trabajo, manos, toallas de manos, manteles, cuchillos, condimentos y sitios limpiados con el procedimiento de limpieza cotidiano, indicando que el uso de detergente, agua caliente e hipoclorito, si bien no elimina totalmente el *Campylobacter*, produce una reducción significativa del agente.

En el Perú no se conoce la real dimensión de la Campilobacteriosis humana debido a la no confirmación de casos y al subregistro de casos. Sin embargo, se dispone de un estudio que reporta 13% en niños menores de 2 años y 20% en niños menores de 6 meses, supuestamente protegidos con el solo consumo de leche materna (Perales *et al.*, 2002), reflejando las condiciones precarias de higiene del grupo afectado.

En el país la carne de pollo difícilmente se come cuando está poco cocida, por lo que la contaminación cruzada en el hogar sería la principal vía de transmisión, especialmente si se toma en cuenta que sobrevive a los procedimientos de limpieza caseros. Se ha determinado que las cepas aisladas de pacientes infectados con *C. jejuni* guardan una relación genética significativa con cepas aisladas de carne fresca de pollos de engorde (Lindmark *et al.*, 2009) y, además, que las cepas detectadas en la carne de pollo son las de mayor virulencia para el humano (Tsai *et al.*, 2006; Pope *et al.*, 2007), lo que permite señalar que la presencia de *Campylobacter* en la carne de mayor consumo en Lima evidencia el potencial problema de salud pública al confirmar el principal reservorio.

CONCLUSIONES

La frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos procedentes de centros de acopio de

la ciudad de Lima fue de 16.7 y 26.7%, respectivamente, siendo en su mayoría cepas de *C. jejuni*.

LITERATURA CITADA

1. **Adedayo O, Kirkpatrick B. 2008.** *Campylobacter jejuni* infections: update on presentation, diagnosis, and management. *Hosp Physician* 44: 9-15.
2. **Black RE, López de Romaña G, Brown KH, Bravo N, Grados O, Creed H. 1989.** Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar - Perú. *Am J Epidemiol* 129: 785-798.
3. **Cogan TA, Bloomfield SF, Humphrey TJ. 1999.** The effectiveness of hygiene procedures for the prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. *Lett Appl Microbiol* 29: 354-358.
4. **Daniel W. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª ed. México: Limusa. 878 p.
5. **de Boer E, Hahné M. 1990.** Cross-contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. from raw chicken products during food preparation. *J Food Prot* 53: 1067-1068.
6. **Di Ginnatale E, Prencipe V, Colangeli P, Alessiani A, Barco L, Staffolani M, Tagliabue S, et al. 2010.** Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in broiler flocks and broiler carcasses in Italy. *Vet Italiana* 46: 415-423.
7. **Donnison A. 2003.** Isolation of thermotolerant *Campylobacter* – Review & methods for New Zealand laboratories. New Zealand: Ministry of Health of New Zealand, Enteric Zoonotic Disease Research in New Zealand Steering Committee. 79 p.
8. **[EFSA] European Food Safety Authority. 2010.** The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA J* 8(1): 1496.
9. **[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2009.** Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Informe técnico sobre ingeniería agrícola y alimentaria. Roma. 194 p. [Internet]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s.pdf>
10. **Fernández H. 2011.** *Campylobacter* y campylobacteriosis: una mirada desde América del Sur. *Rev Peru Med Exp Salud Públ* 28(1): 121-27.
11. **Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B, Reddy S, et al. 2004.** Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: a case-control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis* 38 (Suppl 3): 285-296.
12. **Hue O, Le BS, Laisney MJ, Allain V, Lalande F, Petetin I, Rouxel S, et al. 2010.** Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. *Food Microbiol* 27: 992-999.
13. **Humphrey T, O'Brien S, Madsen M. 2007.** *Campylobacter* as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int J Food Microbiol* 117: 237-257.
14. **Kuana SL, Santos LR, Rodrigues LB, Borsoi A, Kellermann A, Salle CTP, et al. 2008.** Pré-enriquecimento e isolamento direto para identificação de *Campylobacter* em swabs cloacais e carcaças de frango. *Acta Scie Vet* 36(1): 21-24.
15. **Lindmark H, Boqvist S, Ljungström M, Ågren P, Björkholm B, Engstrand L. 2009.** Risk Factors for *Campylobacteriosis*: an epidemiological surveillance study of patients and retail poultry. *J Clin Microbiol* 47: 2616-2619.
16. **Málaga A. 2011.** Plantas de beneficio peruanas: Hora Cero. Actualidad Avípecuaria. [Internet]. [6 enero 2011]. Disponible en: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/plantas-de-beneficio-peruanas-hora-cero.html>

17. **Malher X, Simon M, Charnay V, Danguy des Déserts R, Lehébel A, Belloc C. 2011.** Factors associated with carcass contamination by *Campylobacter* at slaughterhouse in cecal-carrier broilers. *Int J Food Microbiol* 150: 8-13.
18. **[MINAG] Ministerio de Agricultura. Industria Avícola: Junio 2010 [Internet], [04 agosto 2010].** Disponible en: www.minag.gob.pe
19. **Murga H, Huicho L, Guevara G. 1993.** Acute diarrhoea and *Campylobacter* in Peruvian children: a clinical and epidemiologic approach. *J Trop Pediatr* 39: 338-341.
20. **Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen P, Cordova J, Taylor DN, Zimic M, et al. 2003.** *Campylobacter* transmission in a Peruvian shantytown: a longitudinal study using strain typing of *Campylobacter* isolates from chickens and humans in household clusters. *J Infect Dis* 187: 260-269.
21. **Park R, Griffiths PL, Moreno GS. 1991.** Sources and survival of *Campylobacter*s: relevance to enteritis and the food industry. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 20: 97S-106S.
22. **Perales M, Camiña M, Quiñones C. 2002.** Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de La Victoria, Lima - Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Púb* 19(4): 186-192.
23. **Pope C, Wilson J, Taboada E, MacKinnon J, Alves, Nash J, et al. 2007.** Epidemiology, relative invasive ability, molecular characterization, and competitive performance of *Campylobacter jejuni* strains in the chicken gut. *Appl Environ Microbiol* 73): 7959-7966.
24. **Robinson DA. 1981.** Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *Br Med J* 282: 1584.
25. **Suzuki H, Yamamoto S. 2009.** *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *J Vet Med Sci* 71: 255-261.
26. **Tresierra-Ayala, Bendayan M, Bernuy A, Pereyra G, Espinoza F. 1996.** *Campylobacter*s termotolerantes en aves de la ciudad de Iquitos. *Folia Amazónica* 7: 187-194.
27. **Tsai HJ, Huang HC, Tsai HL, Chang CC. 2006.** PCR-based restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of *Campylobacter jejuni* isolates from humans, chickens and dogs in northern Taiwan. *J Vet Med Sci* 68: 815-819.
28. **Vellinga A, Van Loock F. 2002.** The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *Campylobacter enteritis*. *Emerg Infect Dis* 8: 19-22.
29. **[WHO] World Health Organization. 2000.** The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. Copenhagen: WHO.
30. **Zhao P, Zhao T, Doyle MP, Rubino JR, Meng J. 1998.** Development of a model for evaluation of microbial cross-contamination in the domestic kitchen. *J Food Prot* 61: 960-963.