

PRESENCIA DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI*, *C. COLI* Y *C. LARIDIS* EN POLLOS FRESCOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN JOSE, COSTA RICA

Florencia Antillón*, Emilia Odio*, Vera García*

Key Words: *Campylobacter*, chicken carcasses

RESUMEN

Se recolectó 100 muestras de pollos enteros, sin congelar, eviscerados y sin cabeza, procedentes de 20 expendios del área metropolitana de San José, Costa Rica, para determinar la presencia de las especies termofílicas patógenas de *Campylobacter*. Cada muestra se analizó por el método de enjuague, utilizándose para el aislamiento de los bacilos agar Skirrow modificado en atmósfera microaerofílica con 48 horas de incubación a 42°C. Las cepas obtenidas fueron identificadas realizando pruebas bioquímicas y cultivándolos a diferentes temperaturas. Se aisló *Campylobacter* en un 63 por ciento de los pollos. El 57 por ciento se identificó como *C. jejuni*, el 27 por ciento como *C. coli* y el 16 por ciento como *C. laridis* [Rev. Cost. Cienc. Méd. 8(1): 39-41].

INTRODUCCION

Campylobacter jejuni, *C. coli* y *C. laridis* han sido relacionadas con cuadros de gastroenteritis en humanos (1, 15,19). En un estudio realizado en Estados Unidos (3) se aisló *C. jejuni* en un 4.6 por ciento de un grupo de 8097 pacientes con diarrea, y en Inglaterra (12) un 14.9 por ciento de 3.250 muestras de heces diarreicas. En Costa Rica (23) se encontró *C. jejuni* en el 18.2 por ciento de un grupo de 110 niños con diarrea crónica.

Debido a que *Campylobacter* forma parte de la flora intestinal normal de muchas especies de aves y mamíferos, estos son considerados los principales reservorios de estas bacterias. Los alimentos que han sido involucrados en brotes de diarrea han sido: leche de vaca sin pasteurizar, hamburguesas y pollo (2, 8, 9, 19).

Los mecanismos más comunes de transmisión han sido por medio de alimentos crudos o mal

cocidos, o alimentos que se contaminan por medio de tablas de cortar, cuchillos y otros utensilios de cocina que se han utilizado en la preparación de productos contaminados (5, 6, 11).

En Costa Rica, el consumo de pollo ha aumentado en los últimos años, por lo que se llevó a cabo este estudio para evaluar el riesgo potencial de ingerir pollo contaminado con especies patógenas de *Campylobacter*.

MATERIALES Y METODOS

Se recolectó 100 muestras de pollos enteros, sin congelar, eviscerados y sin cabeza, procedentes de 20 expendios seleccionados al azar en el área metropolitana de San José, Costa Rica. Se recogió 5 muestras por cada local, las cuales fueron transportadas en bolsas plásticas individuales en recipientes con hielo, y procesadas durante las siguientes cuatro horas.

A cada bolsa conteniendo el pollo se le agregó 300 ml de agua estéril conteniendo 0.1 por ciento de peptona. Se agitó y masajeó durante 1 minuto. Se mojaron torundas estériles en el agua de lavado, se rayaron placas de agar Skirrow modificado (26) y se incubaron a 42°C durante 48 horas en jarras anaerobias sin catalizador con una atmósfera de 5 por ciento de O₂, 10 por ciento de CO₂ y 85 por ciento de N₂ utilizando el método de evacuación y reemplazo. A las primeras treinta muestras se les hizo un enriquecimiento selectivo en caldo, según lo propuesto por Wesley *et al.* (27).

Las colonias sospechosas, grandes islas transparentes de apariencia acuosa que se extendían a lo largo de la línea de inoculación, como también las colonias redondas de 1 a 2 mm, fueron purificadas en agar sangre de caballo más 0.5 por ciento de extracto de levadura. Estas cepas fueron sembradas en caldo tioglicolato al 0.05 por ciento con 0.15 por ciento de agar e incubadas por 24 horas en las condiciones descritas anteriormente. Se guardaron a -70°C para su posterior identificación.

* Cátedra de Microbiología de Alimentos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Cada cultivo mantenido en tioglicolato se rayó en agar sangre de caballo y se incubó bajo las condiciones indicadas. A partir de estas colonias se efectuó las pruebas de identificación descritas por Morris y Patton (15). Se utilizó como cepa control el *C. jejuni* ATCC 29428.

RESULTADOS Y DISCUSION

En 63 de los 100 pollos analizados, se aisló *Campylobacter*, lo cual representan un peligro potencial para el consumidor, como se ha sugerido previamente (2, 3, 17, 22). En estudios realizados en Estados Unidos (21) se ha aislado *C. jejuni* en el 12.1 por ciento de los pollos, y en el 54 por ciento (16) en un trabajo realizado en Australia.

La distribución de las especies de *Campylobacter* encontrada fue de un 57 por ciento *C. jejuni*, un 27 por ciento *C. coli* y un 16 por ciento *C. lariidis*. En trabajos previos realizados en Costa Rica solamente se informa de aislamientos en heces diarreicas de niños, de *C. fetus jejuni* (7, 14, 23). Morris y Patton (15) indican que ha habido gran confusión con respecto a la clasificación a nivel de especie del género *Campylobacter*, puesto que Smibert (20) en Estados Unidos agrupó todas las cepas termofílicas patógenas al hombre con el nombre de *C. jejuni* y Véron y Chatelain (24) en Francia las clasificaron como dos especies distintas, *C. jejuni* y *C. coli*. Actualmente la clasificación que se utiliza es la aprobada por el "International Committee on Systematic Bacteriology" (15, 18).

De las 35 bacterias que fueron identificadas como *C. jejuni*, 11 cepas (31%) fueron resistentes al ácido nalidíxico. Este dato es superior al obtenido previamente por Lior (13) y Bolton (4) quienes aislaron un 3.7 por ciento y un 2 por ciento respectivamente de cepas resistentes. Debido a que el 100 por ciento de los *C. jejuni* hidrolizan el hipurato y estas bacterias resistentes al ácido nalidíxico hidrolizaron este compuesto, estas cepas fueron identificadas como *C. jejuni*.

Wesley *et al.* (27) señalan que el uso de un caldo de enriquecimiento aumenta la recuperación de *Campylobacter* en pollos. En este trabajo se hizo el enriquecimiento de las primeras treinta muestras, pero el abundante crecimiento de otras bacterias en este caldo dificultó el aislamiento de las buscadas por lo que no se continuó utilizando.

Siguiendo los criterios de la "International Commission on Microbiological Specifications for

Foods" con respecto a la presencia de bacterias enteropatógenas (10, 11) el 95 por ciento de los expendios presentaron lotes de pollo no aceptables, ya que de los 20 establecimientos muestreados, en 19 se encontró *Campylobacter* en más de una de las 5 muestras analizadas, lo que indica que en Costa Rica existen malas prácticas higiénicas durante la matanza de los pollos, ya que al encontrarse *Campylobacter* en el intestino probablemente durante el sacrificio y desplumado se contaminan los cadáveres (2). Es importante señalar que dado que la dosis infectante es tan pequeña, 500 bacterias por gramo (25), el consumo de pollo parcialmente cocido puede causar una infección, pero al igual que ocurre con la *Salmonella*, la cocción de los alimentos es eficaz para eliminar *Campylobacter*; por eso la forma más común de adquirir estas bacterias es por medio de la contaminación cruzada.

ABSTRACT

One hundred fresh, eviscerated poultry carcasses obtained from 20 retail stores from the San José, Costa Rica metropolitan area were analyzed to determine the presence of Campylobacter pathogenic species.

The rinse method was used to sample the carcasses, and Skirrow modified agar, incubated at 42°C for 48 hours in microaerophilic atmosphere, was used to isolate the bacilli. The strains obtained were characterized using biochemical tests and ability to grow at different temperatures.

Campylobacter was isolated from 63 percent of the samples, 57 percent of which were identified as C. jejuni, 27 percent as C. coli and 16 percent as C. lariidis.

AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer al Dr. Mario Vargas, de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica por su valiosa ayuda en la preparación de este manuscrito. Proyecto de Investigación N° 430-86-010. Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. Blaser M. J., Berkowitz, I.D., La Force, F.M., Cravens, J., Reller, L.B. Wang, W.I. *Campylobacter* enteritis: clinical and epidemiologic features. Ann. Intern. Med. 1979; 91:179-185.

2. Blaser, M.J. *Campylobacter jejuni* and food. Food Technol. 1982; 36(3): 89-92.
3. Blaser M.J., Wells, J.G., Feldman, R.A., Pollard, R.A., Allen, J.R. and the collaborative diarrheal disease study group. *Campylobacter* enteritis in The United States. Ann. Intern. Med. 1983; 98:360-365.
4. Bolton, F.J., Holst, A.V., Hutchinson, D.N. *Campylobacter* biotyping scheme of epidemiological value J. Clin. Pathol. 1984; 37:677-681.
5. De Wit, J.C., Broekhuizen, G., Kampelmacher, E H. cross-contamination during the preparation of frozen chickens in the kitchen. J. Hyg. 1979; 83:27- 31.
6. Gill, C.O., Harris, L.M. Hamburgers and broiler chickens as potential sources of human *Campylobacter* enteritis. J Food Prot. 1984; 2(47):96-99.
7. Hernández, F., Herrera, M.L., Rivera, P., Rodríguez, R.M. Alteraciones morfológicas ocurridas espontáneamente en cultivos de *Campylobacter fetus* spp *jejuni*. Rev. Cost. Cienc. Med. 1984; 5(1) 61-70.
8. Hernández-Haba, J., Mateo-Castro, M., Hernández-Jiménez, E. Detección de *C. jejuni* en carne de pollo. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 1984; 24(4). 519-523.
9. Hernández-Haba, J., Mateo-Castro, M. *Campylobacter* en alimentos. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 1985; 25(2):201 -222.
10. Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. vol. 2 University of Toronto Press, Toronto, 1978; 137- 142.
11. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microbial ecology of foods. University of Toronto Press, Toronto, 1978, 65-84.
12. Kendall, E.J., Tanner, E.T. *Campylobacter* enteritis in general practice. J. Hyg. 1982; 88:155-158.
13. Lior, H. New, extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis*. J. Clin. Microbiol. 1984; 201(4): 636-640.
14. Mata, L., Simhon, A., Padilla, R., Gamboa, M.M., Vargas, G., Hernández, F., Mohs, E., Lizano, C. Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter* and other agents in Costa Rica children, 1976-1981. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1983; 32(1):146-153.
15. Morris, G., Patton, C.M. *Campylobacter*. In: Lennefle, E.H., Balows, A., Hausler, W., Shadowy, J. (editors). Manual of Clinical Microbiology American Society for Microbiology, Washington, 1985; 302- 308.
16. Park, C.E., Stankiewicz, Z.K. Incidence of *Campylobacter jejuni* in fresh eviscerated whole market chickens. Can J. Microbiol. 1981; 27:841-844.
17. Shanker, S., Rosenfield, J.A. Davey, G.R., Sorrel, C. *Campylobacter jejuni*: Incidence in processed broilers and biotype distribution in human and broiler isolates. Appl. Environ. Microbiol. 1982; 43(5): 1219-1220.
18. Skirrow, M.B., Benjamin, J. Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter* J. Clin. Pathol. 1980; 33(11) 1122-1137.
19. Skirrow, M.B. *Campylobacter enteritis*, the first five years. J. Hyg., Camb., 1982; 89:175-184.
20. Smibert, R.M. *Campylobacter*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8 th. ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974; 207-11.
21. Stern, N.J.: Green, S., Thaker, N., Krout, D., Chiv, J. Recovery of *Campylobacter jejuni* from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter. J. Food Prot. 1984; 47(5): 372-374.
22. Svedhem, A., kaijser, B., Sogren, E. The occurrence of *Campylobacter jejuni* un fresh food and survival under different conditions. J. Hyg., Camb. 1981; 87(3): 421-425.
23. VII Congreso Centroamericano de Microbiología. Agentes infecciosos en niños con diarrea crónica. Diciembre 1985. San José, Costa Rica.
24. Veron, M., Chatelain, R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* (Sebald and Véron) and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. Int. J. Syst. Bacteriol. 1973; 23:122-134.
25. Walker, R., Caldwell, M.B., Lee, E., Guerry, P., Trust, T., Ruiz Palacios, G. Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis. Microbiol. Rev. 1986; 50(1):81-94.
26. Wempe, J.M., Genigeorgis, C.A., Farver, T.B., Yusufu, H.I. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. Appl. Environ. Microbiol. 1983; 45(2): 355-359.
27. Wesley, R.D., Swaminathan, B., Stadelman, W.J. Isolation and enumeration of *Campylobacter jejuni* from poultry products by a selective enrichment method. Appl. Environ. Microbiol. 1983; 46(5):1097-1099.