

Influencia de vectores y fómites en la transmisión de *Campylobacter* termotolerante en crianzas sucesivas de pollos parrilleros en granjas avícolas.

Rosler, E.¹; Romero-Scharpen A.¹; Berisvi, A.P.¹; Sirini, N.E.¹; Saluzzo, M.¹; Zimmermann, J.A.¹; Olivero, C.R.¹; Antoniazzi, Leandro¹; Frizzo, L.S.^{1,2}; Zbrun, M.V.^{1,2}; Signorini, M.L.^{2,3}.

¹Laboratorio de Análisis de alimentos, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina ²Dpto. de Salud Pública, Facultad de Ciencias veterinarias, UNL/ ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Rafaela.

erosler@fcv.unl.edu.ar

Campylobacter termotolerante, principalmente *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, son reconocidos patógenos humanos principales agentes causales de gastroenteritis de origen bacteriana transmitida por los alimentos². Estas bacterias se encuentran principalmente en el tracto gastrointestinal de aves de corral y estas últimas son las principales fuentes de infección para el humano. El consumo de carne aviar poco cocida o la contaminación cruzada con otros alimentos constituye las principales vías de transmisión de *Campylobacter* termotolerante al humano¹.

Campylobacter coloniza el tracto gastrointestinal de los pollos alrededor de los 14 días de edad, y basta con la colonización de un pollo para que se infecte el resto del lote³. Se desconocen los mecanismos por los cuales *Campylobacter* termotolerante ingresa en la granja de crianza pero se sabe que existe una transmisión horizontal de esta bacteria a través de diferentes vectores y fómites que pueden aumentar el riesgo de colonización y diseminación². Algunos posibles vectores y fómites que pueden aumentar el riesgo de colonización y diseminación podrían ser: el agua de bebida, el alimento balanceado, la cama, insectos, aves silvestres, roedores, personal y otros animales^{2,3,4}.

Es por eso que resulta interesante indagar sobre el rol que tienen estos potenciales vectores y fómites en la difusión de *Campylobacter* termotolerante en la granja de crianza, así como también determinar que influencia podrían llegar a tener en la permanencia de esta bacteria en el galpón de crianza y así favorecer la colonización de pollos en sucesivas crianzas.

Para intentar dilucidar el rol de estos vectores y fómites se realizó un muestreo en una granja avícola comercial. Para ello se visitó dicha granja en el período comprendido entre dos crianzas de pollos sucesivas. En primer lugar, se visitó la granja una semana previa al ingreso de los pollos y se tomaron muestras de: cama del galpón de crianza (n= 15), agua de bebedero (n= 10), alimento balanceado (n= 10), insectos de la cama (n= 40), moscas (n= 20), aves silvestres (n= 15), animales domésticos presentes en la granja (n= 5), y botas del personal de trabajo (n= 5). En la segunda etapa se visitó la granja en la semana previa al sacrificio de los pollos. En dicha etapa se tomaron las mismas muestras y se agregaron muestras de hisopados de cloacas de pollos (n=30).

Todas las muestras, tanto de la etapa previa a la crianza como previa al sacrificio se llevaron refrigeradas al laboratorio y se incubaron en caldo Bolton suplementado con cicloheximida (50 mg/l), cefoperazona (20 mg/l), trimetoprima (20 mg/l) y vancomicina (20 mg/l). La incubación se realizó durante 24 h a 42°C en condiciones de microaerofilia (85% H₂, 10% CO₂ y 5% O₂).

El aislamiento de *Campylobacter* se realizó mediante el método de filtración pasiva en placas de agar modificado carbón-cefoperazona-desoxicolato (mCCDA). Para ello, los caldos Bolton luego de la incubación fueron centrifugadas a 4500 g durante 10 minutos y el pellet resultante de cada uno de ellos se depositó sobre un filtro de nitrocelulosa (0.45µm) estéril previamente colocado sobre el agar mCCDA. La filtración pasiva se realizó a 37°C durante 10 minutos y posterior a eso se retiró el filtro de la placa y esta se incubó a 42°C durante 48 h en condiciones de microaerofilia. Luego de la incubación se observaron las colonias presuntivas y se determinó la presencia de *Campylobacter* termotolerante por morfología típica en microscopio de contraste de fases. Las colonias presuntivas

fueron subcultivadas en agar mCCDA y posteriormente se conservaron a -80°C en medio crioprotector.

A partir de cada aislamiento se realizó una extracción de ADN mediante el método de ebullición a 95°C durante 10 minutos y posterior centrifugado. Una alícuota del sobrenadante se utilizó como templado en una PCR múltiple (Vandamme *et al.*, 1997) para la determinación de la especie *Campylobacter jejuni* o *Campylobacter coli* de cada aislamiento.

Como primer resultado, no se obtuvieron aislamientos de *Campylobacter* termotolerantes en los dos muestreos realizados en la etapa previa a la crianza. Sin embargo, en la etapa previa al sacrificio se obtuvieron 121 (58,5%) aislamientos de *Campylobacter* termotolerante. De los 121 aislamientos obtenidos previo a la etapa de faena, el 69% (n=83) pertenecieron a la especie *C. jejuni* y el 31% (n=38) fueron *C.coli*. Por otro lado, el 68% de los aislamientos fueron de obtenidos de los pollos parrilleros (63% *C. jejuni*, 37% *C. coli*), el 17% fueron de insectos de la cama (80% *C. jejuni*, 20% *C. coli*), el 16% de los aislamientos fueron de aves silvestres (95% *C. jejuni*, 5% *C. coli*); el 10% de la cama del galpón (50% *C. jejuni*, 50% *C. coli*); y por último, 2% de los aislamientos fueron obtenidos de las botas de los operarios de la granja (100% *C. coli*).

La ausencia de aislamientos en la etapa previa a la crianza podría deberse a múltiples factores como la ausencia de los pollos (principal reservorio de este microorganismo), aplicación de planes de limpieza y desinfección, remoción de la cama, vaciado de bebederos. Todos estos factores podrían estar influyendo en el desarrollo y supervivencia de *Campylobacter* termotolerantes pero también podrían estar induciendo en esta bacteria el cambio a un estado viable pero no cultivable. Se puede observar también que de los vectores y fómites muestreados la mayor cantidad de aislamientos fueron obtenidos de aves silvestres y de los insectos de la cama. En aves silvestres, los hábitos de alimentación y comportamiento en las cercanías del galpón de crianza influenciaría la prevalencia de *Campylobacter* termotolerantes y puede tener un papel importante en su epidemiología³. Para el caso de los insectos de la cama, la presencia de *Campylobacter* termotolerantes en ellos sería un importante factor de riesgo ya que el ciclo de vida de estos insectos puede ser de 2 meses hasta 1 año por lo que persistirían en varios ciclos productivos de pollos consecutivos favoreciendo así la permanencia y difusión de *Campylobacter*. La presencia de esta bacteria en estos vectores favorece la transmisión horizontal de *Campylobacter* dentro de un galpón en una misma crianza de pollos, así como también podrían estar influyendo en la transmisión de esta bacteria en los diferentes procesos productivos o la introducción del mismo en la granja. Sin embargo, es necesario realizar nuevas investigaciones tendientes a explicar por qué estos vectores no presentaron aislamientos positivos de *Campylobacter* hasta que el pollo no estuvo presente en la granja. Por otro lado, también es de destacar la gran presencia de aislamientos pertenecientes a la especie *C. jejuni*, lo que también es muy importante a tener en cuenta debido a que es la especie más reportada en infecciones gastrointestinales humanas.

Esta información permite comprender aspectos eco-epidemiológicos de *Campylobacter* termotolerantes en las granjas avícolas para intentar la reducción o eliminación de este patógeno y así minimizar el problema de salud pública que originan. Las estrategias de intervención deben considerar la naturaleza compleja de su transmisión y pueden requerir el uso de enfoques múltiples que se dirijan a diferentes segmentos del sistema de producción avícola

Bibliografía

- 1- Levin, R. E. (2007). *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food Biotechnology*, 21(4), 271-347.
- 2- Ridley, A., Morris, V., Gittins, J., Cawthraw, S., Harris, J., Edge, S., Allen, V. (2011). Potential sources of *Campylobacter* infection on chicken farms: contamination and control of broiler-harvesting equipment, vehicles and personnel. *Journal of applied microbiology*, 111(1), 233-244.
- 3- Sahin, O., Morishita, T. Y., Zhang, Q. (2002). *Campylobacter* colonization in poultry: sources of infection and modes of transmission. *Animal Health Research Reviews*, 3(2), 95-105.
- 4- Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2011). *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology*, 2, 200.