

Campylobacter spp. in poultry products and its impact in public health

Campylobacter spp. en productos aviares y su impacto en salud pública

Campylobacter spp. em produtos de origem aviária e seu impacto na saúde pública

Victoria Rodríguez Gutiérrez^{1,2}, MVZ; Libia Guzmán Osorio¹, MVZ, MSc, PhD; Noel Verjan García^{1,2*}, MVZ, MSc, PhD.

*Autor para correspondencia: Noel Verjan García. Correo electrónico: nverjang@ut.edu.co. Teléfono celular: 318 362 1797

¹ Grupo de Investigación en Avicultura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad del Tolima, A.A. 546, Ibagué, Colombia.

² Grupo de Investigación Inmunobiología y Patogénesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, A.A. 546, Ibagué, Colombia.

(Recibido: 1 de enero, 2015; aceptado: 22 de julio, 2015)

Abstract

Campylobacteriosis is a foodborne disease caused by species of *Campylobacter* and is a public health problem of worldwide distribution. The disease has an acute, self-limiting character, with symptoms such as watery to bloody diarrhea, fever, nausea and vomit, and it affects mainly children under 5 years, elderly and immunocompromised patients. The disease has also been associated with other complications such as arthritis, irritable bowel syndrome, Guillain-Barré or Miller-Fisher syndrome, among others. The main route of infection is through consumption of contaminated poultry meat or through direct contact with infected animals. The frequency of the disease increases continuously and around 190,566 cases of campylobacteriosis are reported annually in the whole world. However, in Colombia the diagnosis, isolation and molecular characterization of the pathogen are currently unknown. In this review, the characteristics, main sources of infection and reservoirs of *Campylobacter* are described, as well as the molecular techniques most frequently used for its diagnosis and characterization.

Keywords:

Diagnosis, poultry, meat, prevalence, reservoirs, zoonoses (DeCS Health Sciences Descriptors).

Resumen

La campilobacteriosis causada por especies de *Campylobacter* es una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) y un problema de salud pública de distribución mundial. La enfermedad es de carácter agudo, autolimitante con síntomas como diarrea acuosa hasta sanguinolenta, fiebre, náuseas y vómito, que afecta principalmente a niños

^oPara citar este artículo: Rodríguez Gutiérrez V, Guzmán Osorio L, Verjan García N. *Campylobacter* spp. en productos aviares y su impacto en salud pública Rev CES Med Zootec. 2015; Vol 10 (2): 203-213.

menores de 5 años, ancianos y pacientes inmunocomprometidos. La enfermedad también se ha asociado con otras complicaciones como artritis, síndrome de inflamación intestinal, el síndrome Guillain – Barré o el síndrome Miller – Fisher entre otros. La principal ruta de infección es a través del consumo de carne de pollo contaminada o a través de contacto directo con animales infectados. La frecuencia de la enfermedad incrementa en forma continua y alrededor de 190.566 casos de campilobacteriosis se reportan al año en todo el mundo. Sin embargo en Colombia el diagnóstico de la enfermedad, el aislamiento y la caracterización molecular del patógeno son actualmente desconocidos. En esta revisión se describen las características de la infección por *Campylobacter*, las principales fuentes de infección y reservorios, así como las técnicas moleculares empleadas con mayor frecuencia en su diagnóstico y caracterización.

Palabras clave:

Aves, carne, diagnóstico, prevalencia, reservorios, zoonosis (Fuente: DeCS Descriptores en ciencia de la salud).

Resumo

A campilobacteriose causada por espécies de *Campylobacter* é uma doença transmitida por alimentos (ETA) e é um grande problema de saúde pública de presença mundial. A doença é de caráter agudo, auto limitante, com sintomas como diarreia aquosa até sanguinolenta, febre, náuseas e vômito, que afeta principalmente as crianças menores de 5 anos, idosos e pacientes imunocomprometidos. A doença também tem se associado com outras complicações como artrite, síndrome de inflamação intestinal, a síndrome Guillain–Barré ou síndrome Miller–Fisher entre outros. A principal rota de infecção é a través do consumo de carne de frango contaminada ou a través do contato direto com animais infetados. A frequência da doença está incrementando em forma continua e a cada ano reportam-se ao redor do mundo 190.566 casos de campilobacteriose. Porém, na Colômbia o diagnóstico da doença, o isolamento e a caracterização molecular do patógeno são atualmente desconhecidos. Nesta revisão descrevem-se as características da infecção por *Campylobacter*, as principais fontes de infecção e reservatórios, assim como as técnicas moleculares empregadas com maior frequência em seu diagnóstico e caracterização.

Palavras chave:

Aves, carne, diagnóstico, prevalência, reservatórios, zoonose

Introducción

Campylobacter spp., son bacterias Gram negativas, delgadas, con forma en espiral y flagelos polares que le permiten un movimiento característico tipo dardo. El género *Campylobacter* agrupa 18 especies, entre las que se destacan *Campylobacter jejuni* y *C. coli*, como los principales agentes etiológicos de la *campilobacteriosis*, una zoonosis de distribución mundial caracterizada por gastroenteritis¹³. Las especies *C. jejuni* y *C. coli* y con menor frecuencia *C. hyointestinalis*²¹, constituyen las causas más comunes de enfermedad transmitida por alimentos (ETA), que se caracteriza por síntomas como fiebre, dolores abdominales, diarrea con sangre, mareo y dolor de cabeza³⁹.

Las especies *C. jejuni* y *C. coli* colonizan con mayor frecuencia el tracto intestinal de las aves de corral, bovinos²⁹, cerdos⁸, ovejas¹, cabras³⁴, perros y gatos³³. Las aves constituyen el principal reservorio de *Campylobacter* spp., y se consideran responsables del

mayor número de casos de enfermedad clínica, siendo la manipulación, preparación y el consumo de carne de pollo y subproductos, las principales vías de contaminación^{36, 63, 72}, no obstante el consumo de agua y leche cruda también participan en la transmisión de la bacteria⁶⁰.

La Campilobacteriosis ha mostrado un incremento paulatino en los últimos años, en el continente europeo pasó de 67 casos en el 2001 hasta 80 casos por cada 100.000 habitantes en el año 2010⁵⁷. En Colombia, *C. jejuni* es uno de los agentes etiológicos de Enfermedad diarreica aguda EDA³⁷, la cual ocupa los primeros lugares en morbilidad en niños menores de 5 años. En la ciudad de Ibagué, departamento del Tolima, a pesar de los reportes frecuentes de EDA en niños y ancianos, el diagnóstico de la enfermedad es deficiente y actualmente se desconoce el papel de las especies de *Campylobacter* en la gastroenteritis en humanos.

El aislamiento microbiológico y la caracterización molecular de especies de *Campylobacter* spp., aisladas de casos clínicos humanos y de canales aviares constituyen un paso inicial para establecer el estado sanitario de este segmento de la industria y en segunda instancia conocer la relación e impacto en la salud pública y eventualmente dar respuesta a la pregunta de investigación “¿Son las especies de *Campylobacter* de origen animal genéticamente relacionadas con aquellas responsables de enfermedad en el hombre?”. En esta revisión, se documenta el estado del arte en la campilobacteriosis, vehículos y vías de transmisión, así como las técnicas más utilizadas en la caracterización molecular de *Campylobacter* spp.

Campylobacter spp.

Campylobacter son bacterias Gram-negativas de la familia *Campylobacteriaceae*, tienen forma curva o en espiral, delgadas (0,2 a 0,5 μm de diámetro), que pueden tener desde 0,5 hasta 8,0 μm de largo⁵³, presentan un movimiento progresivo característico tipo dardo, gracias a que poseen un flagelo en cada extremo de la célula con excepción de *Campylobacter gracilis* (no móvil) y *C. showae* que posee múltiples flagelos¹⁸. La bacteria se cultiva a 42 °C bajo condiciones húmedas y de microaerofilia (85% de nitrógeno, dióxido de carbono 10%, y 5% de oxígeno) y algunas cepas requieren un ambiente enriquecido en hidrógeno (5%) para su crecimiento óptimo⁵³.

El flagelo polar de *Campylobacter* spp., es considerado un importante factor de virulencia que permite la secreción de proteínas asociadas a virulencia, similar al sistema secretor tipo III de otros patógenos. Estructuralmente está formado por dos subunidades altamente inmunogénicas codificadas por dos genes organizados en tándem denominados *flaA* y *flaB*. La mutación en el gen *flaA* reduce la motilidad de la bacteria y su invasividad a células INT407 en cultivo^{9, 26}.

El *Campylobacter* spp., se conoce desde 1909 como causa de enfermedad en animales, sin embargo, la bacteria fue reconocida como agente patógeno en el hombre hasta 1980. *C. jejuni* (también conocido como *C. fetus* subespecie *jejuni*) y *C. coli* son comensales, sin embargo causan enteritis y diarrea en animales domésticos y humanos¹⁴. Algunas cepas de *C. jejuni*, *C. fetus* subespecie *venerealis* y *C. fetus* subespecie *fetus* causan infertilidad y abortos en ovinos y bovinos. *C. fetus* subespecie *fetus* ha sido aislado ocasionalmente de humanos con septicemia^{44, 61}.

Prevalencia de *Campylobacter* spp., en productos de origen animal

La presencia de *Campylobacter* spp., en productos de origen animal varía considerablemente de una región geográfica a otra. *C. jejuni* coloniza la mucosa intestinal de las aves en forma eficiente y allí encuentra las condiciones adecuadas de temperatura (42 °C) para su crecimiento, sin causar signos clínicos. Un número adecuado de microorganismos en las heces de las aves facilita la contaminación de los canales, la transmisión de la bacteria al humano y el origen de campilobacteriosis⁶³.

La prevalencia de *Campylobacter* en carne de pollo comercializada en distribuidoras de pollo y supermercados en España fue de 49,5% en el 2002¹⁵, más recientemente, se reportó una incidencia del 38,1% en hisopados cloacales de aves explotadas en Andalucía⁶⁷. En Irán, el 63% de los canales analizadas el año 2006 estuvieron infectadas con *Campylobacter* spp.⁶⁶. En Eslovenia y Bosnia Herzegovina, el 51,9% de las cepas de *C. coli* y *C. jejuni* aisladas de carne de pollo en canal y el 38,5% de las cepas de origen humano fueron genéticamente idénticas³⁶, demostrando una relación epidemiológica del agente, los alimentos de origen aviar y sus consumidores. En el 2007, en Estonia el 12,06% de las muestras de carne de res se encontraron contaminadas con *Campylobacter* spp., principalmente, *C. jejuni*⁵⁰, mientras que en el mismo país, recientemente se reportó una prevalencia del 20,8% de *Campylobacter* spp., en carne de pollo⁷².

Un estudio en Japón en el 2009, estableció una prevalencia de *Campylobacter* spp., en carne de pollo que varió desde un 62,5% hasta un 100%, donde *C. jejuni* fue la especie más común⁶⁰. *C. jejuni* también fue la especie más prevalente (69,23%) en canales de pollo en Dinamarca⁴³. La prevalencia de *Campylobacter* en muestras de carne para consumo humano fue del 22,7% en Italia en el 2010, donde el 51,9% de los aislamientos provinieron de carne de pollo, el 14,1% de carne de res, y el 5,7% de carne de cerdo⁵⁵. En Estados Unidos, recientemente se reportó una alta frecuencia de *C. coli* (75%) frente a *C. jejuni* (25%) en cerdos (n=155) con diarrea³³.

En América latina, Argentina reportó prevalencias del 94% en aves en recría, 30% en periodo de terminación y 60% en carne de pollo²⁰ y un estudio más reciente, reportó un 83,3% en carne de pollo⁵⁹. En Brasil la presencia de *Campylobacter jejuni* fue de 18,9% en carne de cerdo⁶⁴, mientras que en Colombia, un estudio llevado a cabo en 1985 estableció una prevalencia del

4% de *Campylobacter* en leche para *C. jejuni* y del 1% para *C. coli*^{16, 37}. Estos datos demuestran la ausencia de diagnóstico, aislamiento y caracterización de las especies de *Campylobacter* que circulan en los productos y subproductos de origen animal y aquellas responsables de enfermedad clínica en Colombia.

Enfermedad transmitida por alimentos (ETA)

La campilobacteriosis es una enfermedad zoonótica transmitida a través de la manipulación y consumo de productos de origen animal o el contacto directo con animales infectados⁴⁵. La bacteria se transmite vía oral y al llegar al intestino se adhiere a las células epiteliales o al moco de superficie, donde coloniza y genera una infección asintomática¹², y en condiciones apropiadas puede causar enfermedad diarreica. *Campylobacter* spp., es altamente infeccioso y la dosis infectiva es tan baja como 500 a 800 unidades formadoras de colonias (CFU)³².

La aparición de síntomas y la patogénesis de la infección involucra factores específicos del patógeno como del hospedero, entre los cuales se desatacan el estado de salud, la edad y la inmunidad humoral específica proveniente de exposiciones previas². Los niños presentan diarrea aguda con presencia de sangre, vómito, fiebre y dolor abdominal algunas veces asociada a infecciones del tracto respiratorio alto²⁵. El término diarrea del viajero fue atribuida inicialmente a enteropatógenos como *Escherichia coli*, y actualmente se utiliza de igual manera a pacientes diarreicos con infección por *Campylobacter*⁷. El consumo de aves de corral portadoras de *Campylobacter* es una de las formas más comunes de transmisión de la enfermedad³⁶, este hecho se demostró al remover del mercado pollo contaminado con dioxina en Bélgica, lo que resultó en una reducción del 40% de casos de *Campylobacter* en humanos⁶⁹. La infección por *Campylobacter* en las aves de corral inicia en la granja avícola, siendo algunas de sus causas los bajos niveles de bioseguridad, alimento contaminado y/o movimientos de animales que facilitan la transmisión de un lote a otro^{35,38}.

Campylobacter jejuni además de su patogenicidad gastrointestinal también se ha asociado al síndrome Guillain – Barré (GBS), caracterizado por parálisis neuromuscular aguda⁴¹. Una infección sintomática previa con *C. jejuni* se asoció con GBS en más de 150 casos por año y el 15% de todas las hospitalizaciones relacionadas con GBS en Inglaterra⁶⁵. El síndrome Miller – Fisher es una neuropatía asociada con ataxia, areflexia y oftalmoplejia y se considera como una variación poco

frecuente de GBS, las cuales tienen en común infecciones previas por *C. jejuni*^{5,54}. Panikkat *et al.*, en el año 2014 realizaron un reporte de caso de miocarditis asociado a una previa infección con *C. jejuni* en Arizona⁴⁸. Estos reportes sugieren la importancia de establecer modelos animales específicos para explorar las características moleculares de *Campylobacter* asociadas a dichos síndromes.

Prevalencia de *Campylobacter* spp., en humanos

La campilobacteriosis es una enfermedad transmitida por alimentos muy común en el mundo, con gran impacto en América Latina (Tabla 1), donde Argentina, Ecuador, Paraguay y Perú reportan las prevalencias más altas, mientras que en Colombia los estudios son muy limitados y únicamente se tienen registros puntuales en niños menores de 5 años (2,3%) de la ciudad de Tunja^{16,37}, sin ningún seguimiento y por lo tanto no permiten una aproximación a la situación real. En Estados Unidos durante el año 2009 se reportó una incidencia de 28,9% en niños menores de cuatro años y en adultos se presentó en un rango de 8,34% a 13,51%¹². En Brasil en el año 2010, *Campylobacter jejuni* y *C. coli* se detectaron en 9,6% y 6% de niños con diarrea, respectivamente⁶¹. En el mediterráneo, Grecia presenta la prevalencia más alta de *Campylobacter* en niños (78,4%)¹. En Dinamarca la alta resistencia a antibióticos que manifestó *C. jejuni* aislado de distintos orígenes fue encontrado como un factor predisponente a enfermedad en humanos⁴. En Colombia se carece de un diagnóstico preciso de este microorganismo y su impacto en individuos y poblaciones vulnerables a la infección es desconocido.

Reservorios de *Campylobacter* spp.

Los principales reservorios de *Campylobacter* spp., son las aves de corral, el ganado bovino, ovino y suino, roedores, perros y gatos. La cantidad de hospederos varía con la especie, *C. jejuni* tiene un amplio rango mientras que *C. coli* es más frecuentemente aislado de suinos²⁹. No obstante en ovejas clínicamente sanas no parece haber diferencias entre *C. jejuni* (34,1 %) y *C. coli* (33,1%)¹ y la prevalencia de *Campylobacter* en gatos y perros sanos (18%, 23%) no parece ser significativamente diferente de aquellos con diarrea (16%, 27%)⁵⁶. Las especies *C. jejuni*, (6,3%), *C. upsaliensis* (5,9%) y *C. coli* (0,7%) se han aislado con mayor frecuencia de caninos asintomáticos en Suiza³ y en Noruega⁵⁶.

Tabla 1. Frecuencia de aislamiento (%) de *Campylobacter jejuni* y *C. coli* en niños con diarrea en América Latina ³¹.

| <i>País</i> | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> |
|-------------|------------------|----------------|
| Argentina | 4,6 | 1,4 |
| Argentina | 9,1 | NAI |
| Argentina | 30,1 | NAI |
| Bolivia | 10,5 | NAI |
| Bolivia | 4,4 | 7,3 |
| Brasil | 5,8 | 2,2 |
| Brasil | 9,6 | 6,0 |
| Chile | 9,2 | NAI |
| Chile | 5,7 | NAI |
| Chile | 14,1 | 5,4 |
| Colombia | 14,4 | 2,4 |
| Colombia | 2,3 | NAI |
| Ecuador | 23,0* | NAI |
| Paraguay | 18,4 | 0,6 |
| Perú | 15-23 | NAI |
| Perú | 18,2 | NAI |
| Perú | 13* | NAI |
| Perú | 2,9 | 5,0 |
| Uruguay | 14,3 | NAI |
| Venezuela | 13,0* | NAI |
| Venezuela | 6,5 | NAI |

*Referido como *C. jejuni*, *C. coli* o *Campylobacter* spp.

NAI No aislado o identificado.

En Grecia las especies *C. coli* (76,2%) y *C. jejuni* (21,4%) fueron las más prevalentes en corderos, cabras y ovejas³⁴. En un estudio reciente en España se reportó la presencia de *Campylobacter* spp., en ungulados silvestres como el jabalí (38,9%), el venado rojo (2,8%) y el muflón (7,7%), siendo *C. lanienae* la especie más frecuente (67,3%), seguida por *C. coli* (20%) y *C. jejuni* (3,6%)¹¹. Otro reservorio de *C. jejuni* y *C. coli* es la cerceta común (*Anas crecca*), aves silvestres relacionadas a las fuentes de agua en Italia¹⁹. Recientemente, *C. coli* y *C. jejuni* (25%) fueron aislados de enfermedad diarreica en cerdos⁸. *C. jejuni* ha sido detectado en infección mixta con *C. upsaliensis* en felinos, indicando que las especies de *Campylobacter* no poseen mayor especificidad por algún hospedero y por el contrario su amplia distribución podría dificultar los estudios epidemiológicos²⁹. En Montería, Colombia, diversos casos de infertilidad en bovinos han sugerido una asociación con especies de *Campylobacter* spp., sin embargo, la frecuencia (1,8%) detectada ha sido muy baja para establecer alguna asociación causal²².

Campylobacter spp., también se ha aislado de múltiples hospederos tanto domésticos como silvestres, incluyendo, patos, gansos, gorriones, primates, loros y fauna silvestre

de la amazonia peruana¹⁶, lo cual puede indicar una amplia distribución y/o adaptación de la bacteria.

Técnicas moleculares y caracterización de *Campylobacter* spp.

Las metodologías de investigación epidemiológica y de caracterización molecular han sido fundamentales para demostrar la relación entre productos de origen animal y la infección por *Campylobacter* en humanos^{4, 15, 36, 66}, por ejemplo, análisis de un número de cepas de *C. jejuni* y *C. coli* de productos aviares y de origen clínico mediante electroforesis en campo pulsado (*Pulsed field gel electrophoresis*, PFGE) y polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP) del gen de flagelina permitió corroborar la transmisión de la bacteria desde las aves en la granja al producto aviar y finalmente al hombre⁷². PFGE también ha permitido identificar los distintos focos de contaminación por *C. jejuni* en la cadena de procesamiento de aves y la diversidad de tipos resistentes a antibióticos⁴³.

PFGE es una técnica molecular donde el ADN genómico de los microorganismos es digerido con endonucleasas,

los segmentos generados son separados en un gel de agarosa, mediante la aplicación de campos eléctricos cuya direccionalidad cambia a intervalos predeterminados, obteniendo un patrón de bandas característico para cada cepa⁴⁶. Actualmente esta técnica se considera como la "estándar de oro" de los métodos de tipificación molecular para patógenos bacterianos transmitidos por alimentos²¹, su aplicabilidad ha permitido diferenciar genotipos tales como *C. jejuni* y *C. coli*, así como diversos subtipos dentro de los mismos⁵⁰. El uso de PFGE ha permitido obtener 37 tipos diferentes sin solapamiento de los genotipos en ninguna de las muestras⁶. La estandarización de PFGE en diferentes laboratorios también ha permitido la discriminación correcta de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. hyointestinalis*, *C. fetus*, y *C. concisus*, entre otros⁵¹. El uso de esta técnica en la caracterización de especies de *Salmonella* aislada de la cadena avícola en el Tolima también ha sido de gran utilidad en la discriminación de genotipos resistentes a diferentes antibióticos⁵².

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta muy valiosa para determinar la frecuencia y diversidad de especies con mayor sensibilidad que la técnica microbiológica³⁰. Usualmente se amplifica el gen que codifica la subunidad ribosomal 16s (16S rRNA)^{31,49}. Esta técnica ha permitido identificar diversas especies de *Campylobacter* como *C. hominis*, *C. gracilis*, *C. sputorum*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. lanienae*, *C. helveticus*, *C. upsaliensis* y *C. lari* entre otros^{24,27}.

La técnica ha sido usada en combinación con otras como FRET – PCR (Real-time fluorescence resonance energy transfer), secuenciamiento y análisis filogenético de cepas de *C. jejuni* de origen clínico¹⁷ y animal^{27,67}. La amplificación del gen 16s rRNA a través de la técnica de PCR es altamente sensible en comparación con la técnica de cultivo microbiológico, tiene un límite de detección de 5 UFC (Unidades formadoras de Colonias), mientras

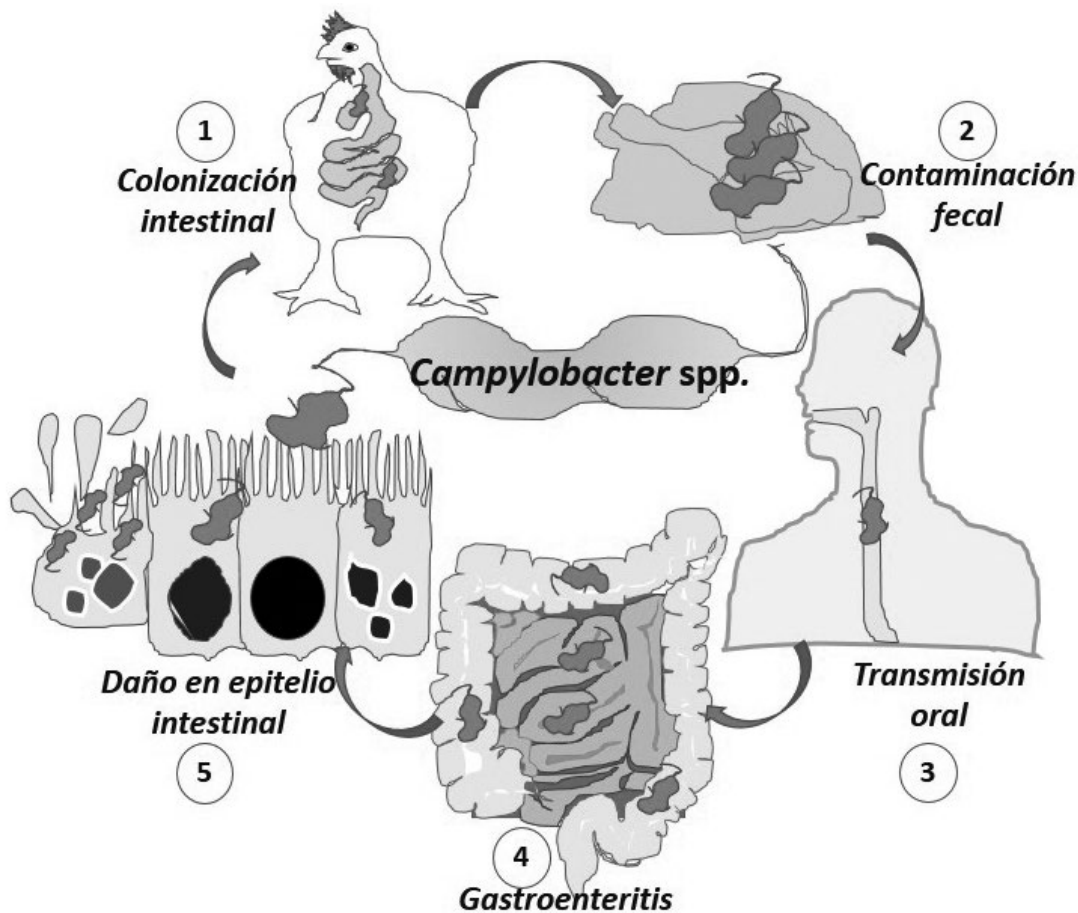


Figura 1. Representación esquemática de campilobacteriosis. 1) Colonización intestinal del pollo de engorde, 2) contaminación de las canales de pollo de engorde, 3) transmisión vía oral al humano, 4) infección gastrointestinal y manifestación de signos clínicos, 5) daño en el epitelio intestinal.

que el cultivo normalmente necesita mínimo 300 UFC para arrojar un resultado positivo⁴⁰.

La técnica de PCR-RFLP o Restriction Fragment Length Polymorphism, analiza la longitud de fragmentos de PCR digeridos con enzimas de restricción. Esta técnica es utilizada como una de las herramientas para el diagnóstico, tipificación y control de *Campylobacter* por la Unión Europea en un programa denominado *Campynet*¹⁰. La aplicación de esta técnica al gen de la flagelina FlaA digerido con la enzima *DdeI* ha sido considerado como el método más apropiado en la tipificación de *C. jejuni* y *C. coli*²⁸. Un estudio reportó hasta un 95% de capacidad de tipificación, siendo capaz de diferenciar hasta 19 tipos distintos dentro de estas especies⁶.

El Multiplex PCR (mPCR) permite la amplificación simultánea de diferentes genes en una sola reacción. La identificación de los genes específicos de especie hipO y 23S rRNA de *Campylobacter jejuni*; *glyA* de *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis*; y *sapB2* de *C. fetus* subsp. *fetus*⁷⁰, permitieron el desarrollo de esta técnica⁵⁸. En el año 2007, se utilizó en forma exitosa en la identificación de los seis taxones de *Campylobacter* relacionados con gastroenteritis y/o septicemia en humanos, como *C. coli*, *C. fetus*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. jejuni*, *C. lari*, y *C. upsaliensis*⁷¹. Recientemente mPCR permitió establecer la prevalencia de *C. jejuni* en galpones de pollo de engorde del sur de España⁶⁷, y en Grecia permitió la identificación de *C. coli* como la especie más prevalente en niños y pequeños rumiantes¹. Una variación del mPCR es el real – time multiplex PCR, la cual ha sido usada en la detección de *C. jejuni* y otros enteropatógenos con un nivel de sensibilidad del 97,5%⁷¹.

La técnica AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), también ha permitido la identificación de al menos 15 de las especies del género, incluyendo *C. jejuni* y *C. coli* con una reproducibilidad de la técnica del 94.21%⁴⁷. Algunos estudios, exaltan la importancia de técnicas como AFLP y MLST (Multilocus sequence typing) en la determinación de especies del género así como subespecies dentro de estas especies, con niveles de sensibilidad del 76 al 100% y de especificidad del 72 al 100%. En un estudio reciente se identificaron los genotipos de *C. jejuni* en caninos con y sin diarrea mediante MLST, reportándose al menos 57 tipos de secuencias (ST) diferentes, donde el ST-45 fue el tipo más prevalente en animales diarreicos frente a los no diarreicos³. Sin embargo se considera que la técnica de PCR en tiempo real, permite obtener un 100% de sensibilidad y 100% de especificidad en la identificación

de subespecies de *Campylobacter* como *C. fetus* subsp. *fetus* y *C. fetus* subsp. *venerealis*, involucradas en la campilobacteriosis bovina^{42, 62, 68}.

La campilobacteriosis es una enfermedad zoonótica transmitida al humano por el consumo de alimentos contaminados, en particular los productos de origen aviar como la carne de pollo contaminados durante el beneficio y procesamiento. La enfermedad se caracteriza por gastroenteritis y diarrea en individuos vulnerables como los niños y ancianos, los cuales experimentan destrucción del epitelio intestinal debido a multiplicación bacteriana (Figura 1). El impacto que tiene este patógeno en la salud pública en Colombia es desconocido, no obstante con frecuencia se reportan casos de EDA, sugiriendo la necesidad de implementar un mejor diagnóstico y vigilancia epidemiológica de los distintos segmentos de la cadena avícola, de la calidad e inocuidad de los productos y subproductos. Finalmente, el establecimiento de las posibles relaciones filogenéticas entre las especies de *Campylobacter* de origen aviar y aquellas de origen humano permitirán comprender el ciclo epidemiológico y generar medidas adecuadas para disminuir su impacto en la salud pública.

Referencias

1. Acik Mehmet N, Cetinkaya B. Heterogeneity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from healthy sheep. *Vet Microbiol* 2006; 115: 370–375.
2. Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlom DL. *Campylobacter jejuni* - An emerging foodborne pathogen. *Emerg Infect dis* 1999; 5: Enero – febrero.
3. Amar C, Kittl S, Spreng D, Thomann A, Korczak BM, Burnens AP *et al.* Genotypes and antibiotic resistance of canine *Campylobacter jejuni* isolates. *Vet microbiol* 2014; 168: 124 – 130.
4. Andersen SR, Saadbye P, Shukri NM, Rosenquith H, Nielsen NN, Jeppe B. Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark. *Int J Med Microbiol* 2006; 107: 250 – 255.
5. Ang CW, de Klerk MA, Endtz HP, Jacobs BC, Laman JD, van der Meche FGA, van Doorn PA. Guillain – Barre syndrome and Miller – Fisher syndrome – associated *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides induce Anti – GM1 and Anti – GQ1b Antibodies in rabbits. *Infect Immun* 2001; 69: 2462 – 2469.

6. Behringer M, Miller WG, Oyarzabal OA. Typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from live broilers and retail broiler meat by flaA-RFLP, MLST, PFGE and REP-PCR. *J Microbiol Meth* 2011; 84: 194–201.
7. Beraum Villa M, Valdez LM. Diarrea del viajero. *Revista Médica Herediana* 2013; 24: 54 – 61.
8. Burrough E, Terhorst S, Sahin O, Zhang Q. Prevalence of *Campylobacter* spp. relative to other enteric pathogens in grow-finish pigs with diarrhea. *Anaerobe* 2013; 22: 111 – 114.
9. Byeonghwa J, Muraoka WT, Zhang Q. Advances in *Campylobacter* biology and implications for biotechnological applications. *Microb Biotechnol* 2010; 3: 242 – 258.
10. Campynet, 2011. <http://campynet.vetinst.dk/>
11. Carbonero A, Paniagua AJ, Arenas Montes A, Borge C. *Campylobacter* infection in wild artiodactyl species from southern Spain: Occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. *Comp immunol microb* 2014; 37: 115 – 121.
12. Centers for disease control and prevention (CDC). Morbidity and mortality weekly report (MMWR). *Preliminary FoodNet Data on the Incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 states*. Weekly report 2009; 59: 481 – 422.
13. Cervantes García E, Cravioto QA. *Campylobacter* y enfermedades asociadas. Monografía. *Rev Fac Med UNAM* 2007; 50 (1).
14. Da Silva QJ, Nunes Lima IF, Havt A, de Carvalho EB, Leal Lima N, Melo Soares A, Salani Mota RM et al. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in children from communities in Northeastern Brazil: molecular detection and relation to nutritional status. *Diagn Micr Infec Dis* 2010; 67: 220–227.
15. Domínguez C, Gómez I, Zumalacárregui J. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology* 2002; 72: 165– 168.
16. Fernández H. *Campylobacter* y campylobacteriosis: Una mirada desde América del sur *Revista Peruana de Medicina experimental y Salud pública* 2011; 28: 121 – 127.
17. Ferreira S, Julio C, Queiroz JA, Domínguez FC, Oleastro M. Molecular diagnosis of *Arcobacter* and *Campylobacter* in diarrhoeal samples among Portuguese patients. *Diagn Micr infec dis* 2013; 78: 220 – 225.
18. Forbes B, Sahn DF, Weidfeld AS, Bailey S. Diagnóstico microbiológico. 12ª Edición. Médica Panamericana (Buenos Aires) 2009; 36: 416 – 421.
19. Gargiulo A, Sensale M, Marzocco L, Fioretti A, Menna LF, Dipineto L. *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and cytolethal distending toxin (CDT) genes in common teals (*Anas crecca*) *Veterinary Microbiology* 2011; 150: 401–404.
20. Giacobini G, López C, Tellechea D, Agostini A. *Campylobacter jejuni* en una granja de pollos camperos. *Analecta Veterinaria* 2002; 22: 42-47.
21. Goering RV. Pulsed field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infect Genet Evol* 2010; 10: 866–875.
22. González M, Ríos RR, Mattar S. Prevalencia de bacterias asociadas a la Infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba* 2007; 12: 1028-1035.
23. Gorkiewicz G, Feierl G, Schober C, Dieber F, Kofler J, Zechner R et al. Species-Specific Identification of *Campylobacter* by Partial 16S rRNA Gene Sequencing. *J clin microbiol* 2003; 41: 2537–2546.
24. Gorkiewicz G, Feierl G, Zechner R, Zechner EL. *Transmission of Campylobacter hyointestinalis from a Pig to a Human*. *J. Clin Microbiol.* 2002; 40 (7): 2601 – 2605.
25. Grzybowska – Chlebowczyk U, Kalita B, Flak – W, Lasielska M, Wiecek S, Wojcieszyn M, Horowska – Ziaja S et al. Clinical course of *Campylobacter* infections in children. *Pediatrics polska* 2013; 88: 329 – 334.

26. Guerry P, Alm RA, Power ME, Logan SM, Trust TJ. Role of Two Flagellin Genes in *Campylobacter* Motility. *J Bacteriol* 1991; 173: 4757 - 4764.
27. Hansson I, Persson M, Svensson L, Olsson Engvall E, Johansson KE. Identification of nine sequence types of the 16S rRNA genes of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isolated from broilers. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2008; 50. <http://www.actavetscand.com/content/50/1/10>.
28. Harrington CS, Moran L, Ridley AM, Newell DG, Madden RH. Inter-laboratory evaluation of three flagellin PCR/RFLP methods for typing *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: the CAMPYNET experience. *J Appl Microbiol* 2003; 95: 1321–1333.
29. Horrocks SM, Anderson RC, Nisbet DJ, Ricke SC. Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in animals 2009; *Anaerobe* 15: 18 – 25.
30. Inglis GD, Kalischuk LD. Use of PCR for Direct Detection of *Campylobacter* Species in Bovine Feces. *Appl environ microb* 2003; 69: 3435–3447.
31. Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA. Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2761–2764.
32. Janssen R, Krogfelt KA, Cawthraw SA, van Pelt W, Wagenaar JA, Owen RJ. Host-Pathogen Interactions in *Campylobacter* Infections: the Host Perspective. *Clin microbiol rev* 2008; 21: 505 – 518.
33. Koene M, Houwers DJ, Dijkstra JR, Dium B, Wagenaar JA. Strain variation within *Campylobacter* species in fecal samples from dogs and cats. *Vet Microbiol* 2009; 133: 199–205.
34. Lazou T, Houf K, Soultos N, Dovas C, Iossifido E. *Campylobacter* in small ruminants at slaughter: Prevalence, pulsotypes and antibiotic resistance. *Int J Food Microbiol* 2014; 173: 54 – 61.
35. MacRitchie LA, Hunter CJ, Strachan NJC. Consumer acceptability of interventions to reduce *Campylobacter* in the poultry food chain. *Food control* 2014; 35: 260 – 266.
36. Mäessar M, Praakle K, Meremae K, Kramarenko T, Sogel J, Viltrop A, et al. Prevalence and counts of *Campylobacter* spp. in poultry meat at retail level in Estonia. *Food control* 2014; 44: 72 – 77.
37. Manrique – Abril FG, Tigne DB, Bello S, Ospina JM. Agentes causantes de diarrea en niños menores de 5 años en Tunja, Colombia. *Revista de Salud Pública* 2006; 8: 88-97.
38. Manvendra S, Binu J, Mu M, Hao Van TT, Taki A, Coloe PJ, Smooker PM. Strategies to reduce *Campylobacter* colonisation in chickens. *Procedia in vaccinology* 2013; 7: 40 – 43.
39. Masanta Wycliffe O, Heimesaat MM, Bereswill St, Tareen Abdul M, Lugert R, Grob U et al. Modification of intestinal microbiota and its Consequences for Innate Immune response in the pathogenesis of Campylobacteriosis 2013. *Clin Dev Immunol* 2013; Article ID 526860. <http://www.hindawi.com/journals/jir/2013/526860/>.
40. Mateo E, Cárcamo J, Urquijo M, Perales I, Fernández – Astorga A. Evaluation of a PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail poultry products. *Res Microbiol* 2005; 156: 568–574.
41. McCarthy N, Giesecke J. Incidence of Guillain – Barre Syndrome following infection whit *Campylobacter jejuni*. *Am J Epidemiol* 2001; 153.
42. McGoldrick A, Chanter J, Gale S, Parr J, Toszeghy M, Line K. Real Time PCR to detect and differentiate *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* and *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis*. *J Microbiol Meth* 2013; 94, 199–204.
43. Melero B, Juntunen P, Hanninen ML, Jaime I, Rovira J. Tracing *Campylobacter jejuni* strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates. *Food Microbiology* 2012; 32: 124 – 128.
44. Moore JE, Corcoran D, Dooley JSG, Fanning S, Brigid L, Matsuda M, et al. *Campylobacter*. Review article. *Vet Res* 2005; 36: 351 – 382.

45. OIE Terrestrial Manual. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Chapter 2.9.3.; 200: 1185–1191. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.09.03_CAMPYLO.pdf.
46. Olive DM, Bean P. Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1661–1669.
47. On S, Harrington CS, Identification of taxonomic and epidemiological relationships among *Campylobacter* species by numerical analysis of AFLP profiles. *FEMS Microbiology Letters* 2000; 193: 161 – 169.
48. Panikkath R, Costilla V, Hoang P, Wood J, Gruden JF, Dietrich B, et al. Chest pain and diarrhea: a case of *Campylobacter jejuni*-associated Myocarditis. *The journal of emergency medicine*; 2014 46: 180 – 183.
49. Patel JB. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Mol Diagn* 2001; 6(4): 313-21.
50. Praakle-Amin K, Roasto M, Korkeala H, Hanninen ML. PFGE genotyping and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* in retail poultry meat in Estonia. *Int J Med Microbiol* 2007; 114: 105–112.
51. Ribot EM, Fitzgerald C, Kubota K, Swaminathan B, Barrett TJ. Rapid pulsed-Field Gel Electrophoresis protocol for Subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol* 2001; 39: 1889 – 1894.
52. Rodríguez R, Fandiño C, Donado P, Guzmán L, Verjan N. Characterization of *Salmonella* from commercial egg-laying hen farms in a central region of Colombia. Sometido para publicación: *Avian disease* 2014.
53. Romero – Cabello R. Microbiología y Parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias.
54. Salloway S, Mermel LA, Seamans M, Asoinall GO, Nam Shin JE, Kurjanczyk LA et al. Miller – Fisher associated whit *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD31996. *Infect Immun*; 64: 2945 – 2949.
55. Sammarco ML, Ripabelli G, Fanelli I, Grasso G. M, Tamburro M. Prevalence and Biomolecular characterization of *Campylobacter* spp. Isolated from retail meat. *J food protect* 2010; 73: 720 – 728.
56. Sandberg M, Bergsjø B, Hofshagen M, Skjerve E, Kruse H. Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Prev Vet Med* 2002; 55: 241 – 253.
57. Schielke A, Rosner BM, Stark K. Epidemiology of campylobacteriosis in Germany – insights from 10 years of surveillance. *BioMed central Infectious diseases* 2014; 14.
58. SfAM, The Society for Applied Microbiology. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *J Appl Microbiol* 2001. Symposium Supplement; 90: 1 – 15.
59. Signorini ML, Zbrun MV, Romero – Scharpen A, Olivero C, Bongiovanni F, Soto LP et al. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis by consumption of salad cross-contaminated with thermophilic *Campylobacter* spp. from broiler meat in Argentina. *Prev Vet Med* 2013; 109: 37– 46.
60. Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology* 2011; 2: Artículo 200.
61. Stanchi NO. Microbiología veterinaria. Buenos Aires Argentina: Inter - medica Editorial XXI; 2007: 528-532.
62. Suh SH, Dwivedi HP, Jaykus LA. Development and evaluation of aptamer magnetic capture assay in conjunction with real-time PCR for detection of *Campylobacter jejuni*. *Food Sci Technol* 2014; 56: 256 – 260.
63. Suzuki H, Yamamoto S. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in Japan: A literature survey. *Food Control* 2009; 20: 531–537.

64. Szygalski Biasi R, Freitas de Macedo RE, Scaranello M, Mineia A, Franchin PR. Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. *Food Control* 2011; 22: 702 – 707.
65. Tam CC, Rodrigues LC, O'Brien SJ. Guillain – Barre syndrome associated with *Campylobacter jejuni* infection in England, 2000 – 2001. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 307 – 310.
66. Taremi M, Soltan Dallal MM, Gachkar L, Ardalan Sanaz M, Zolfagharian K, Reza Zali M. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. *Int J Med Microbiol* 2006; 108: 401–403.
67. Torralbo A, Borge C, Allepuz A, García – Bocanegra I, Sheppard SK, Perea A *et al.* Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. *Prev Vet Med* 2014; 114: 106–113.
68. Van der Graaf – van Bloois L, van Bergen MAP, van der Wal FJ, de Boer AG, Duim B, Schmidt T, Wagenaar JA. Evaluation of molecular assays for identification *Campylobacter fetus* species and subspecies and development of a *C. fetus* specific real-time PCR assay. *J Microbiol Meth* 2013; 95: 93–97.
69. Vellinga A, Van Look F. The Dioxin Crisis as Experiment To Determine Poultry-Related *Campylobacter Enteritis*. *Emerg infect dis* 2002; 8 (1): 19 - 22.
70. Wang G, Clarck CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L *et al.* Colony Multiplex PCR assay for detection and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. 2002. *J Clin Microbiol*; 40: 4744 – 4747.
71. Wiemer D, Loderstaedt U, von Wulffen H, Priesnitz S, Fischer M, Tannich E. Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia* species in fecal samples. *Int J Med Microbiol* 2011; 301: 577– 584.
72. Zorman T, Heyndrickx M, Uzunovic-Kamberovic S, Smole Mozina S. Genotyping of *Campylobacter coli* and *C. jejuni* from retail chicken meat and humans with campylobacteriosis in Slovenia and Bosnia and Herzegovina. *Int J Food Microbiol* 2006; 110: 24–33.