

Cuantificación Campylobacter & Gestion de Riesgo

Luis daCosta

BioControl System inc.



2015

Porque es importante...

- Es considerada actualmente como la mayor causa de enfermedad entérica.
- Puede causar diarreas simples hasta diarrea con sangre.
- Datos confirman que las infecciones se manifiestan también como neumonía, meningitis y el síndrome de Guillain-Barré (parálisis flácida aguda).

Rev Med Chile 2015; 143: 183-189

Características epidemiológicas del síndrome de Guillain-Barré en población chilena: estudio hospitalario en un período de 7 años

GABRIEL CEA¹, PAULA JARA², FERNANDO QUEVEDO³

La mayoría de los casos se presentaron en los meses de verano e invierno (Figura 2). Veintiún pacientes (51,2%) habían presentado cuadros infecciosos en las 2 o 3 semanas anteriores al diagnóstico, principalmente gastrointestinales o respiratorios, sin que esto determinara diferencias importantes entre las distintas variedades

Características...

- Son tres las más importantes para la salud humana: *C.jejune*, *C.lari* y *C. coli*.
- *La C.jejune causa el 90% de las infecciones.*
- *Son termofilicas, temperatura óptima 42°C*
- *El Campylobacter no se multiplica en alimentos refrigerados, pero se mantienen hasta 3 semanas.*
- **“La temperatura de congelación -20°C elimina hasta 2 logaritimos”**
- ***Las muestras tienen que ser procesadas inmediatamente después de abrir el empaque porque el oxígeno fresco mata o aumenta el stress, dificultando el análisis.***

**ISO/CEN standards for *Campylobacter*
- recent developments -**

Enne de Boer
Food and Consumer Product Safety Authority (VWA)
The Netherlands

**Presentación durante la
reunión técnica de la
ISO para *Campylobacter*.**

**ISO/CEN standards for *Campylobacter*
ISO/TS 10272-3**

There is a need for the quantitative assessment of *Campylobacter* in monitoring the effect of control measures and in risk assessment studies.

Besides direct plating according to ISO/TS 10272-2, semi-quantitative detection may be applied to give an estimate of the level of *Campylobacter* contamination.

www.sva.se/upload/pdf/CRL/workshop

ISO/CEN standards for *Campylobacter* ISO/TS 10272-3

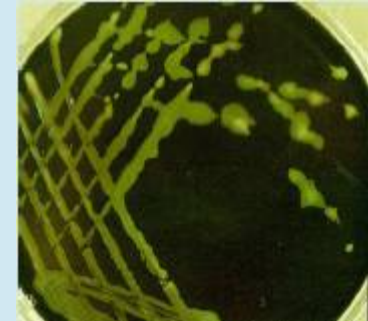
Principle:

The test portion and decimal dilutions thereof are inoculated or diluted in Bolton broth and homogenized

Incubation: 4-6h 37°C, 40-48h 41,5°C, microaerobic

Plating on mCCD agar, further as in ISO 10272-1

mCCD: Charcoal Cefoperazone Deoxicholate



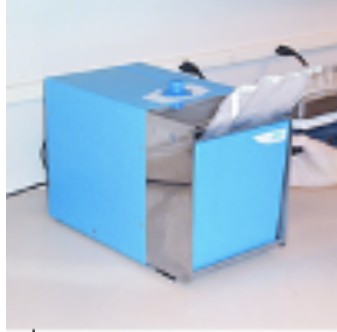
This method is based on qualitative detection in selected dilutions; the result is therefore given in intervals.

ISO/CEN standards for *Campylobacter* ISO 10272-3

Interpretation of growth in the semi-quantitative assessment of *Campylobacter*

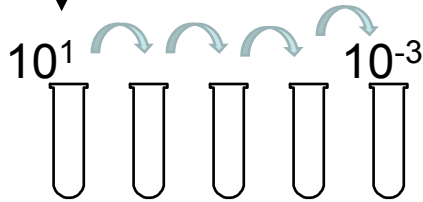
Dilution	growth on mCCD agar plates					
10 ¹	-	+	+	+	+	+
10 ⁰	-	-	+	+	+	+
10 ⁻¹	-	-	-	+	+	+
10 ⁻²	-	-	-	-	+	+
10 ⁻³	-	-	-	-	-	+
<i>Interpretation</i> (cfu/ml)	<0,1	0,1- 1	1- 10	10- 100	100- 1000	1000- 10.000

mCCD: Charcoal Cefoperazone Deoxicholate



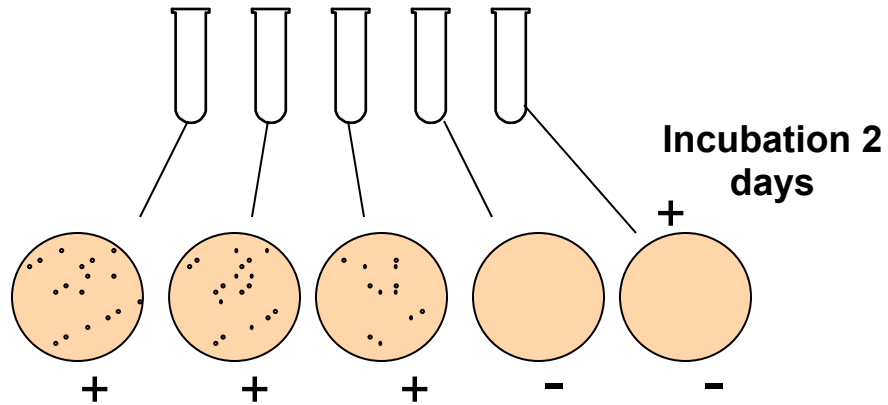
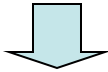
ISO 10272-3 (2007)

25 g + 225 mL
(1:10 dilution)

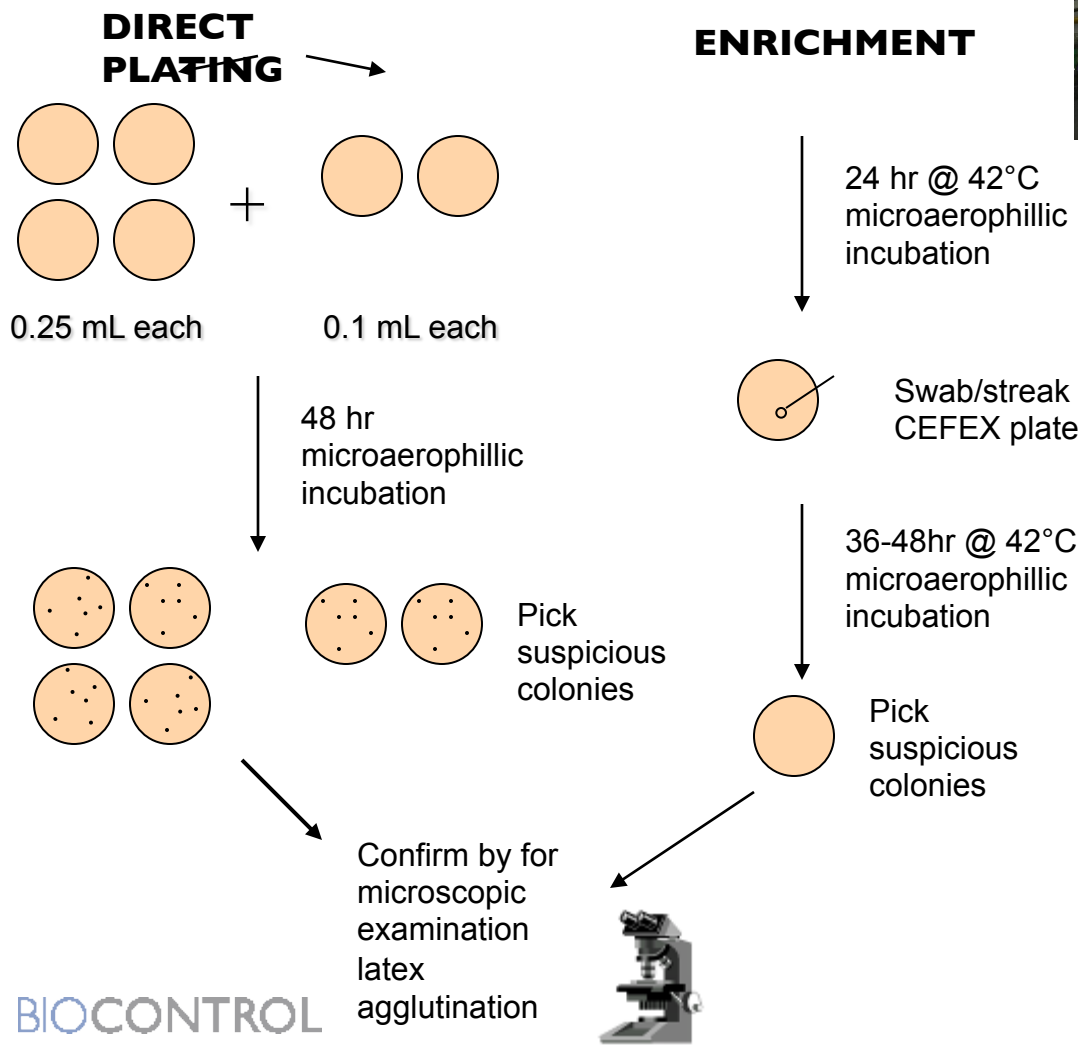
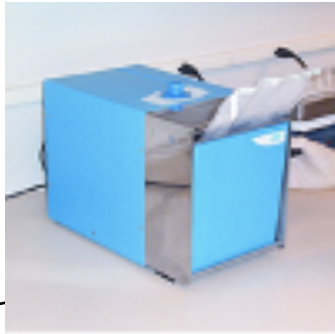


1 mL + 9 mL
Bolton Broth
serial dilution

Incubation Microaerobic 4 to 6 hrs at
37C + 40 - 48hrs at 41.5C



Quantitative result = 100 cfu/ml



Method for Enumeration of *Campylobacter jejuni/coli* (FSIS 4/9/98)

Una opción practica:

SimPlate[®]

Campylobacter

“Un metodo preciso para **cuantificación de**
Campylobacter.”

SimPlate®

Procedimiento

Prepare la muestra

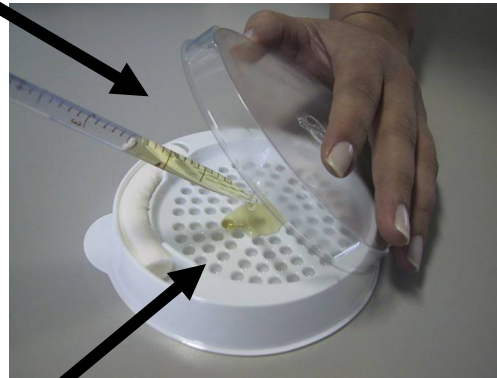


Pipetear 1ml de la muestra para la placa

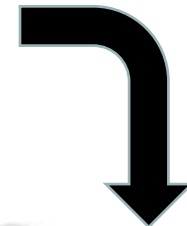
Hidratar Medio de Cultivo con agua esteril



Pipetear 9ml del medio hidratado para la placa



Incubar 48 horas a 42°C en jarra de microaerofilia



Leer resultados

SimPlate[®]

- Simplate Campylobacter una formula innovadora

① Resultados presuntivos

- Contar las colonias rojas

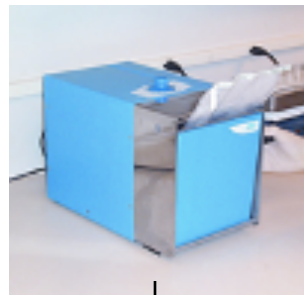
② Resultados Confirmativos

- Colocar la misma placa bajo luz UV
 - Excluir las colonias azul fluorescentes

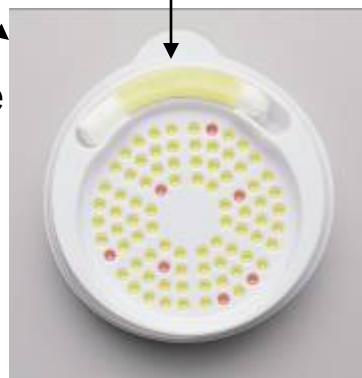
→ Ver la tabla de conversión para volumen final



SimPlate[®] Method



Contar las colonias rojas que no presentan fluorescencia.



Ejemplo:

7 pozos positivos = 14 UFC

14 UFC/ml x dilución (10^1)

140 UFC

SimPlate[®] NCR Conversion Table

If all wells are negative and the sponge is positive then conversion = < 2

positive wells = population	positive wells = population	positive wells = population
1 = 2	29 = 70	57 = 190
2 = 4	30 = 74	58 = 195
3 = 6	31 = 76	59 = 202
4 = 8	32 = 80	60 = 208
5 = 10	33 = 84	61 = 216
6 = 12	34 = 86	62 = 224
7 = 14	35 = 90	63 = 232
8 = 16	36 = 94	64 = 240
9 = 18	37 = 96	65 = 248
10 = 22	38 = 100	66 = 256
11 = 24	39 = 104	67 = 266
12 = 26	40 = 108	68 = 276
13 = 28	41 = 112	69 = 288
14 = 30	42 = 116	70 = 298
15 = 32	43 = 120	71 = 312
16 = 36	44 = 124	72 = 324
17 = 38	45 = 128	73 = 338
18 = 40	46 = 132	74 = 354
19 = 42	47 = 136	75 = 372
20 = 46	48 = 142	76 = 392
21 = 48	49 = 146	77 = 414
22 = 50	50 = 150	78 = 440
23 = 54	51 = 156	79 = 470
24 = 56	52 = 160	80 = 508
25 = 58	53 = 166	81 = 556
26 = 62	54 = 172	82 = 624
27 = 64	55 = 178	83 = 738
28 = 68	56 = 184	84 = >738

SimPlate[®]

Formula del medio

C. Lari, *C. coli* y *C. jejune* expresan una enzima que metaboliza un reactivo del medio cambiando la color a rojo:

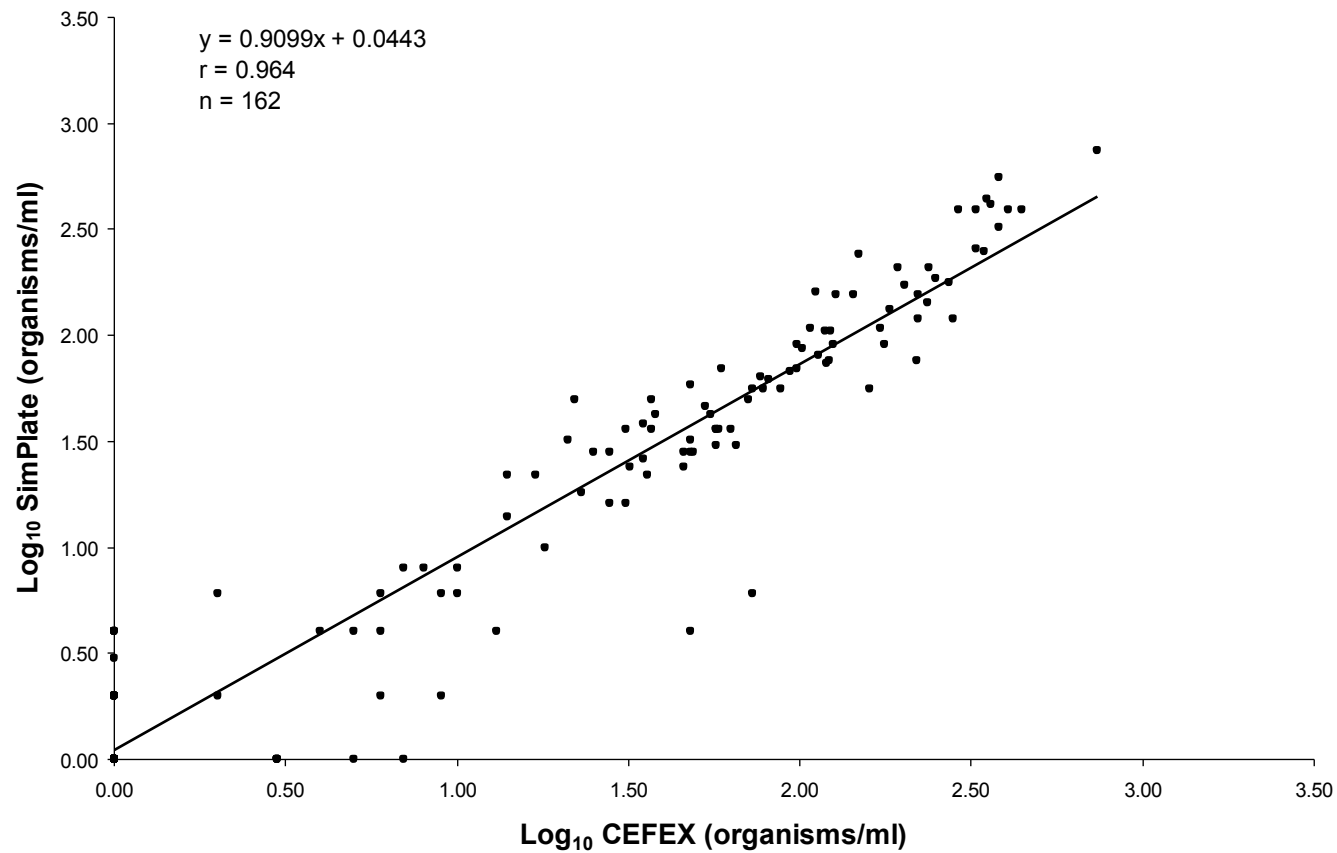
- **Hay posibilidad de 2% de esta reacción ser generada por E. coli**

Para diferenciar las E.coli basta utilizar la luz UV en presencia del MUG se generara fluorecencia. Los pozos fluorescentes no son Campylobacter.

SimPlate Campy-CI

Estudios de validación

Campylobacter Field Trial Data



Prevalencias Nacionales - Chile

País	Autor	Muestras	Lugar	Prevalencia <i>campylobacter</i> termotolerante	
Chile	G. Figueroa	Carcasas, ambiente y ciego (n=625)	Planta faenadora A	Recepción	80%
				Post-desplume	74%
				Post-evisceración	90%
				Salida chiller	68%
				Total	80%
			Planta faenadora B	Recepción	46%
				Post-desplume	24%
				Post-evisceración	54%
				Salida chiller	38%
				Total	41%
	H. Fernández	Carne de Pollos			45% C. jejuni
					15% C. coli
Higados de pollo				21,6% C.jejuni	
				69,6% C.coli	
Muestras fecales de gallinas (n=300)		Sur de Chile en aves de traspatio	25,7% (77% C:jejuni y 23% C.coli)		
Fecas de gallinas ponedoras (n=150)	Sur de Chile en aves sanas	66,7% (88% C.jejuni y 12%C.coli)			
Fecas de aves silvestres (n=392)	7 especies del Sur de Chile	24,2% (70% C.jejuni, 23% C.coli y 7% C. lari)			

Fuente: Taller Gestion de Riesgo de campilobacteriosis – Miguel Adasme G. – Julio 2014

Requisitos de USA

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE
FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE
WASHINGTON, DC

FSIS NOTICE

31-11

6/30/11

**NEW PERFORMANCE STANDARDS FOR SALMONELLA AND CAMPYLOBACTER
IN CHILLED CARCASSES AT YOUNG CHICKEN AND TURKEY SLAUGHTER
ESTABLISHMENTS**

<i>Campylobacter spp</i>	
Pollos	Pavos
8 (+) de 51	3 (+) de 56

Linea base Campylobacter

- **Objetivos**

- Cumplir con exigencia normativa de USA y otros mercados en el futuro (UE)
- Determinar la prevalencia nacional de este patógeno en aves de producción industrial
- Montar un programa de Control equivalente con USA

- **Número de muestras**

Pollos	Pavos	TOTAL
572	312	884

- **Muestras de piel de cuello en pavos y enjuague de carcasa en pollo, tomadas post-enfriado**

Sugerencia:

La gestión de riesgo necesita base amplia de datos y la alta incidencia de Campylobacter ya es conocida, entonces datos de presencia y ausencia serán mucho más efectivos si se acompañan de la cuantificación.

Luis da Costa

luis@biocontrolsys.com

SimPlate[®]
Campy