

LIII SYMPOSIUM CIENTÍFICO DE
AVICULTURA

29 y 30
SEPTIEMBRE
2016

Zaragoza
FACULTAD DE VETERINARIA

Colabora
Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza

Organiza
ASOCIACIÓN ESPAÑOLA
DE ESPECIALISTAS EN
ENFERMEDADES AVICOLAS



CONTROL DE *CAMPYLOBACTER*: UN GRAN RETO PARA LA INDUSTRIA AVÍCOLA



Alfredo Corujo
Dtor I+D GRUPO SADA

29 Septiembre 2016

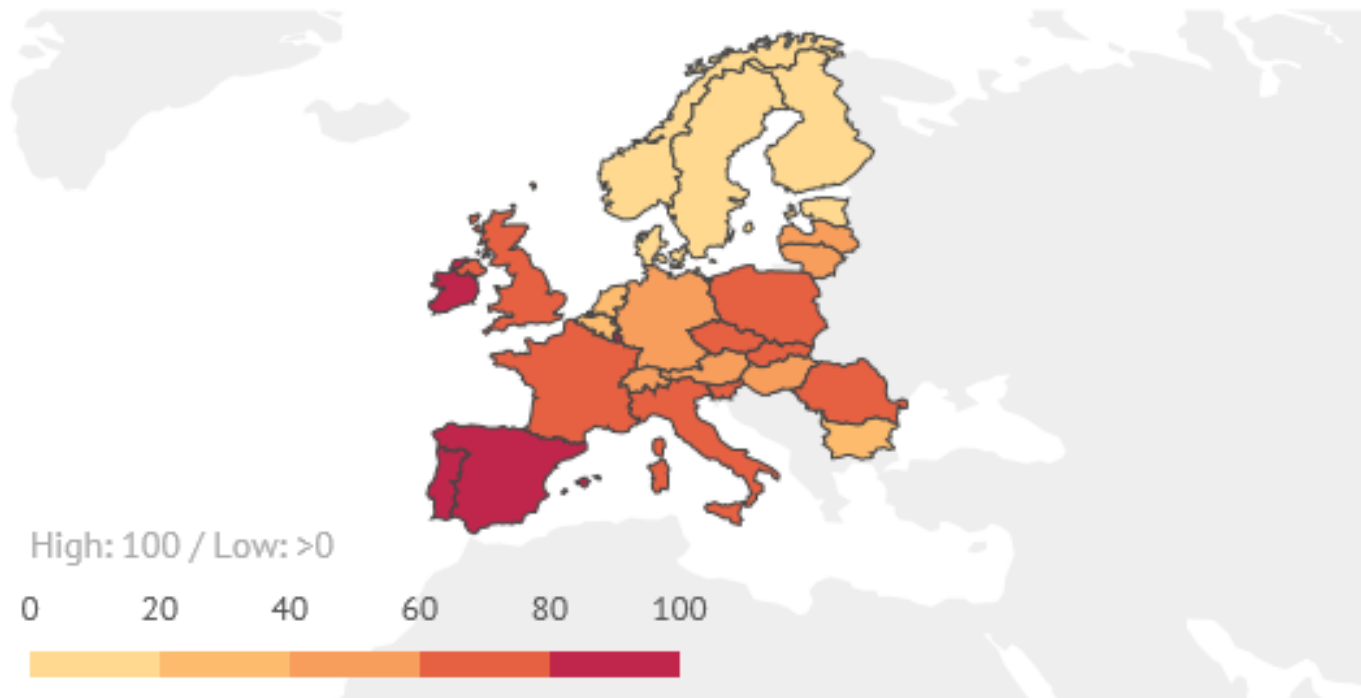
Índice

- ✓ Introducción
- ✓ Factores de Riesgo y Bioseguridad.
- ✓ *Campylobacter* y los clareos.
- ✓ Tratamiento de Camas.
- ✓ Ambiente y *Campylobacter*.
- ✓ Aditivos frente a *Campylobacter*.
- ✓ Proyecto Campylo-Phage.
- ✓ *Campylobacter* y metagenómica.
- ✓ Conclusiones

Introducción

Figure 1 - Prevalence of Campylobacter in European countries.

Prevalence (%) of Campylobacter spp. Colonised broiler batches



Introducción

Annex I to Regulation (EC) No 2073/2005 is amended as follows:

"2.1.9 Poultry carcasses of broilers	Campylobacter spp.	50 ⁽⁵⁾	5	1000 cfu/g	ISO/TS 10272-2	Carcases after chilling	Improvements in slaughter hygiene and review of process controls, origin of animals and of the biosecurity measures in the farms of origin"
--	--------------------	-------------------	---	------------	-------------------	-------------------------------	--

Campylobacter vs matrices

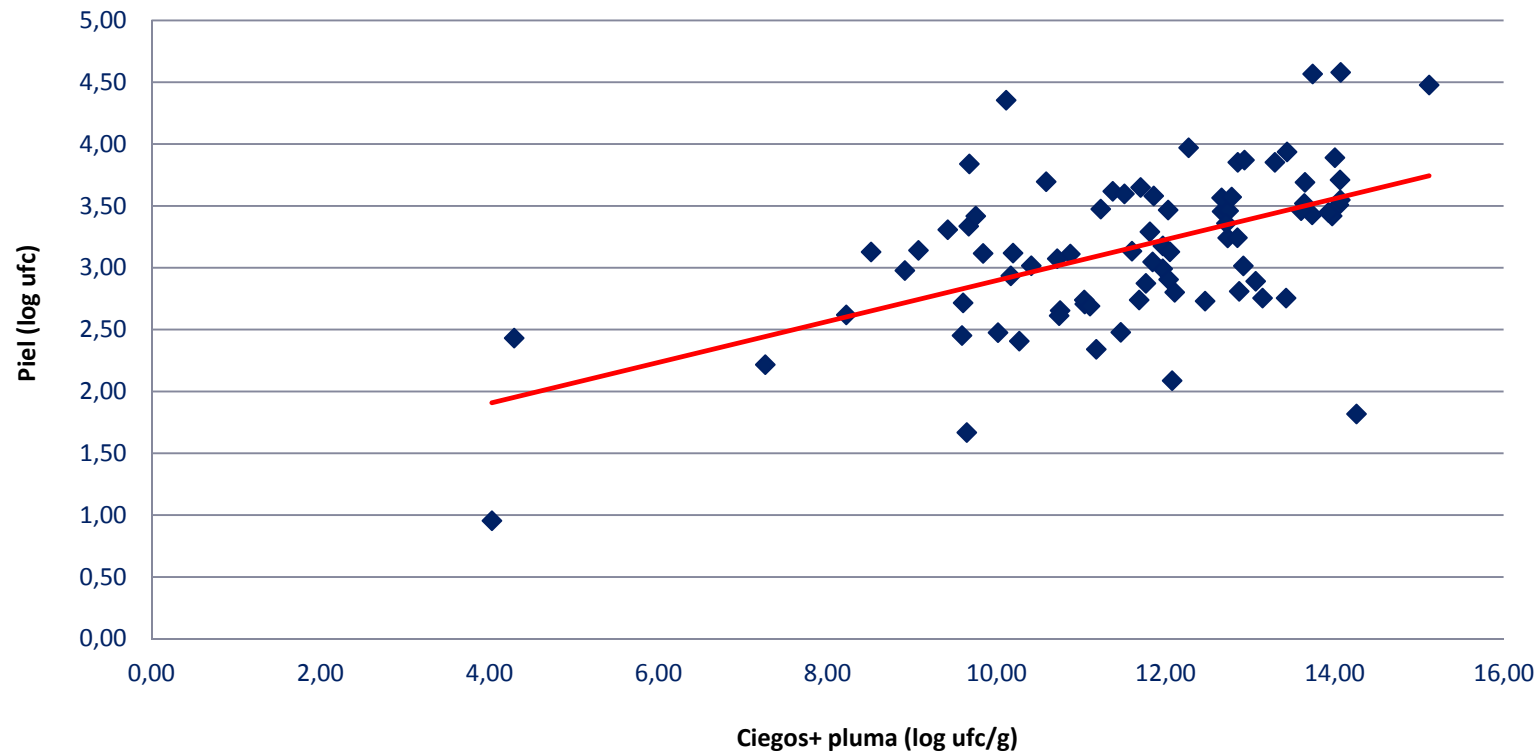
80 LOTES; 10 LOTES/PLANTA MUESTREADOS

	PROMEDIOS log (ufc/g) POR MATRIZ EN CADA PLANTA				
	MATRIZ				
PLANTA	Plumas	Ciegos	Colon	Buches	Piel
1	4.24	5.93	5.88	3.78	3.13
2	5.71	7.85	7.46	4.99	3.41
3	4.17	6.16	6.01	3.91	3.00
4	4.56	7.24	6.87	4.27	3.08
5	4.89	6.55	6.65	3.94	3.03
6	5.53	7.59	7.56	4.58	3.44
7	4.58	6.91	6.73	3.85	3.07
8	4.30	6.46	5.29	3.12	3.12
PROMEDIO	4.75	6.83	6.56	4.06	3.16

Campylobacter vs matrices

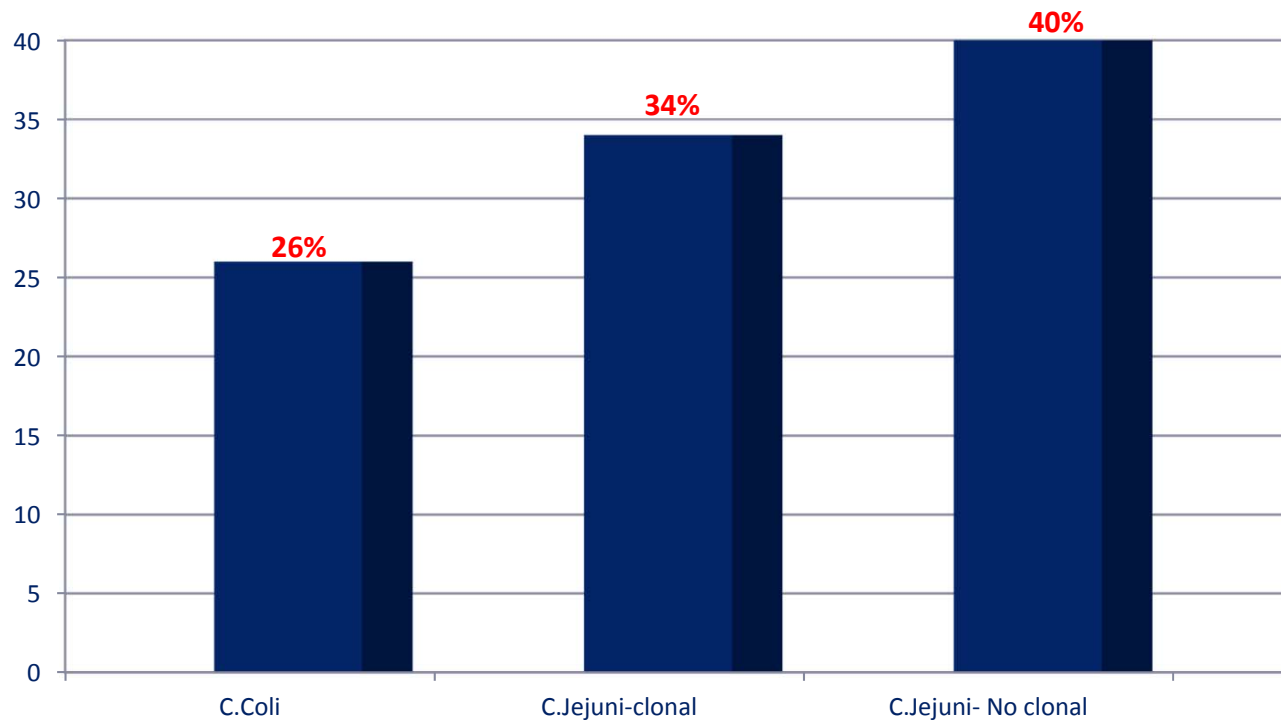
$$\text{PIEL} = 1,21017 + \text{Pluma} * 0,14038 + \text{ciegos} * 0,18764$$

(R² = 0.28, P < .001)



Factores de riesgo en la colonización por *Campylobacter*

Frecuencia por categoría



Factores de riesgo en la colonización por *Campylobacter*

Modelo multi-variable, *C. jejuni* “Clonal”

PARAMETRO	VARIABLE	HR (FACTOR DE RIESGO)	P
Edad (semanas)	Aves con mas de 2 semanas de edad	0.04	<0.001
Edad (semanas)	Aves entre 2-3 semanas	0.21	0.039
Edad (semanas)	Aves entre 3-4 semanas	0.51	0.363
Pollos Totales	Por cada 10.000 pollos en la nave	0.65	0.015
Nº Naves	Nº de naves en la granja	1.64	0.086
Período de cría	Acceso a toda la nave >10 días	13.54	0.0001
Período de cría	Acceso a toda la nave entre 5-10 días	3.63	0.090
Período de cría	Acceso a toda la nave entre 2-5 días	3.79	0.146
Personal	Personal trabajando en otras granjas	3.90	0.002
Control roedores	No hay control de roedores	16.14	0.003
Control roedores	Control roedores empresa externa	2.19	0.170
Otros animales	Otros animales presentes en la granja	3.02	0.028

Factores de riesgo en la colonización por *Campylobacter*

Modelo multi-variable, *C. jejuni* ' No Clonal'

PARAMETRO	VARIABLE	HR (FACTOR DE RIESGO)	P
Edad (semanas)	Aves con mas de 2 semanas de edad	0.10	0.001
Edad (semanas)	Aves entre 2-3 semanas	0.65	0.374
Edad (semanas)	Aves entre 3-4 semanas	0.33	0.074
Alrededores Nave	Suelos cemento alrededor	0.32	0.035
Uso antibióticos	Antibiótico aplicados recientemente	0.18	0.094
Personal	Personal trabajando en otras granjas	0.45	0.073
Desinfección	No hay pediluvios a la entrada	2.22	0.044

Factores de riesgo en la colonización por *Campylobacter*

Modelo multi-variable, *C. Coli*

PARAMETRO	VARIABLE	HR (FACTOR DE RIESGO)	P
Edad (semanas)	Aves con mas de 2 semanas de edad	0.16	0.198
Edad (semanas)	Aves entre 2-3 semanas	1.55	0.690
Edad (semanas)	Aves entre 3-4 semanas	6.44	0.077
Nº Naves	Nº de naves en la granja	0.51	0.008
Uso antibióticos	Antibiótico aplicados recientemente	3.06	0.017
Desinfección	No hay pediluvios a la entrada	2.37	0.083

Campylobacter y la Bioseguridad

Durante los años 2010-2015 se ha participado en el proyecto europeo CAMCON (Improved *Campylobacter* Control).

Se utilizaron 18 granjas distribuidas en tres grupos (Control, bioseguridad y bioseguridad + mosquiteras).

El estudio para ver la eficacia de estas medidas se realizó de la siguiente manera:

- Ciclos 1+2 = los tres grupos en modo control.
- Ciclos 3 a 6= grupo Bioseguridad y grupo Bioseguridad + mosquiteras, en modo bioseguridad.
- Ciclos 7 a 13= grupo Bioseguridad + mosquiteras, con mosquiteras ya instaladas.



Campylobacter y la Bioseguridad

Posters con instrucción de entrada/salida



Ropa y calzados exclusivos para la nave

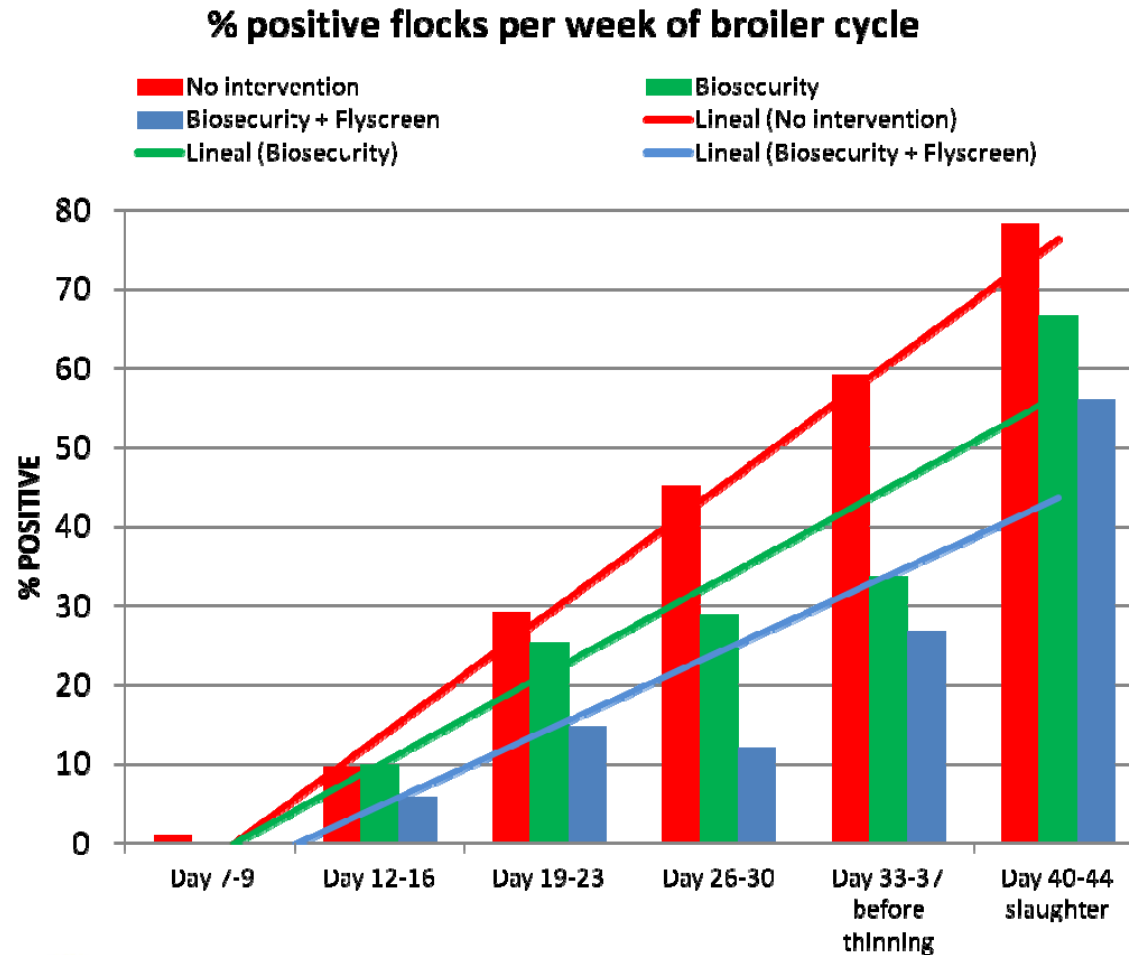
Desinfectante para manos obligatorio

Cubo para sacar las bajas

Barrera física que separa zona limpia/zona sucia



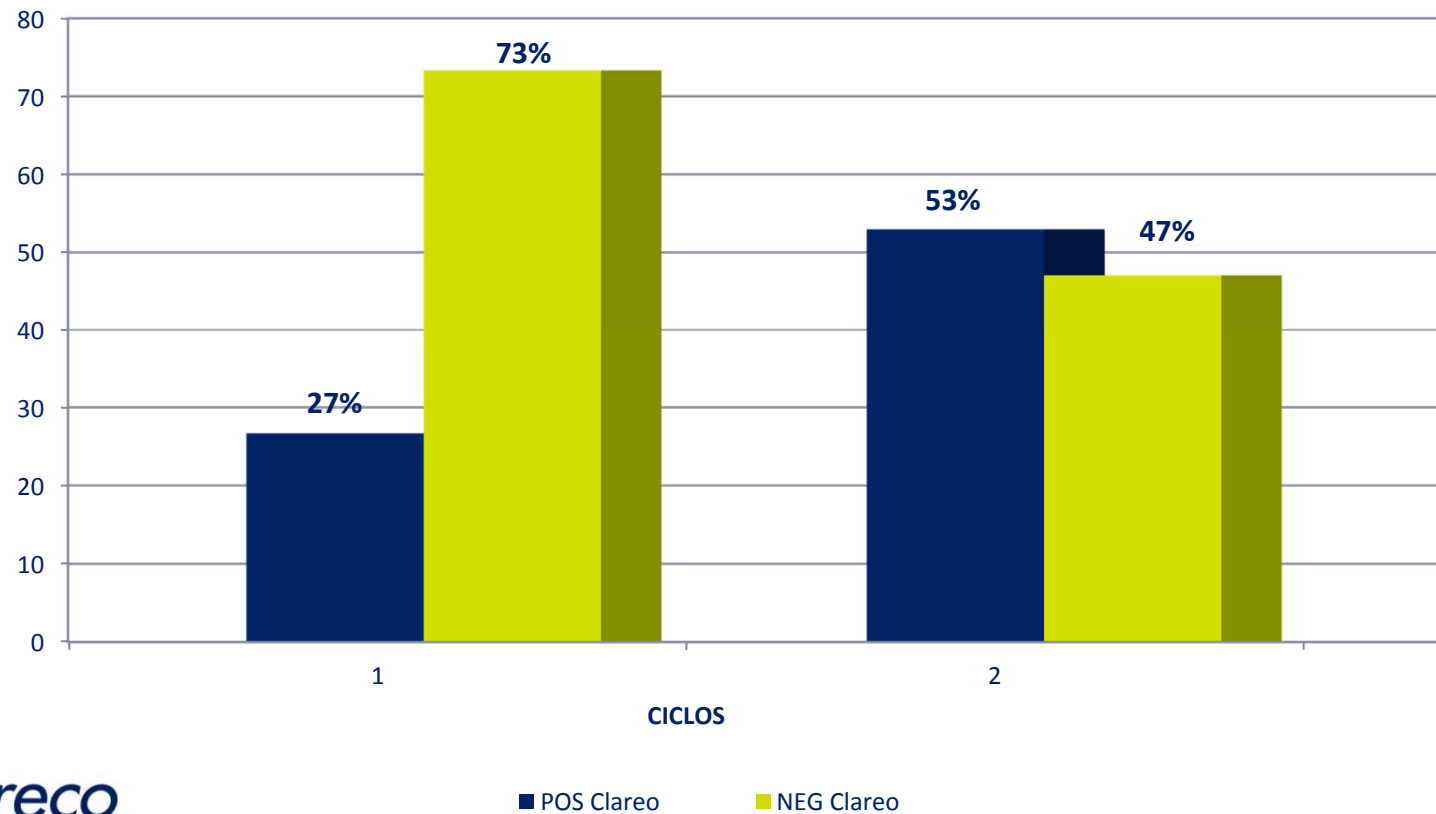
Campylobacter y la Bioseguridad



- Granjas sin la bioseguridad se contamina antes por *Campylobacter*.
- La bioseguridad y las mosquiteras retrasan el tiempo de introducción *Campylobacter* en la nave.
- Aunque muchos lotes están infectados al momento del sacrificio a pesar de la bioseguridad, se ha visto que el clareo tiene un efecto sobre la contaminación por *Campylobacter* por la introducción del mismo en las naves.

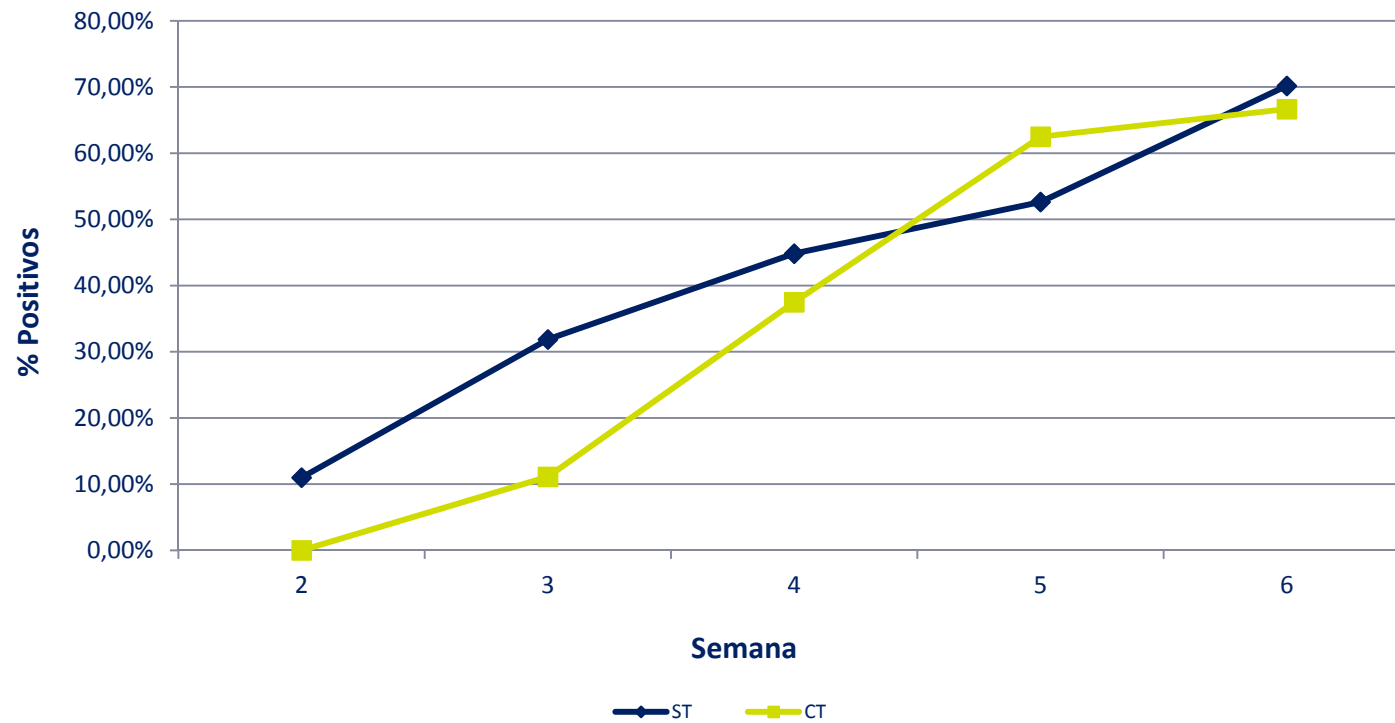
Campylobacter y los clareos (Thinning)

CICLO	CLAREADAS	NO CLAREADAS
1	15	2
2	17	0



Tratamiento de Camas

EFECTO TRATAMIENTO CAMA



TRATAMIENTO pH ALCALINO

Tratamiento de Camas

COMPOSICION	Mg /Kg	%
Arcillas	766.333	76,6333
Sulfato ferroso heptahidratado	16.667	1,6667
Óxido de zinc	12.500	1,2500
Aceite de eucalipto	2.500	0,2500

Tratamiento de Camas

RESULTADOS A DÍA 15 DE VIDA

NAVE	TRATAMIENTO	pH				HUMEDAD %	HUMEDAD MEDIA CAMA
		pH 1	pH 2	pH MEDIA	pH MEDIA CAMA		
1	TRATAMIENTO	8.06	7.9	7.98	7.43	35.10	29.11
1	TRATAMIENTO	7.78	7.69	7.74		30.83	
1	TRATAMIENTO	6.86	6.99	6.93		31.26	
1	TRATAMIENTO	8.15	8.13	8.14		28.06	
1	TRATAMIENTO	6.49	6.65	6.57		21.85	
1	TRATAMIENTO	7.39	7.09	7.24		27.54	
2	CONTROL	7.36	7.13	7.25	7.10	34.23	31.10
2	CONTROL	8.27	8.05	8.16		45.14	
2	CONTROL	7.19	7.74	7.47		45.10	
2	CONTROL	6.46	6.49	6.48		19.09	
2	CONTROL	6.57	6.76	6.67		21.03	
2	CONTROL	6.46	6.71	6.59		22.00	

Tratamiento de Camas

RESULTADOS A DÍA 15 DE VIDA

NAVE	TRATAMIENTO	Campylobacter	
		PCR CAMPYLOBACTER	CRECIMIENTO EN PLACA
1	TRATAMIENTO	POSITIVO	POSITIVO
1	TRATAMIENTO	NEGATIVO	
1	TRATAMIENTO	POSITIVO	POSITIVO
1	TRATAMIENTO	NEGATIVO	
1	TRATAMIENTO	POSITIVO	POSITIVO
1	TRATAMIENTO	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	
2	CONTROL	NEGATIVO	

Ambiente y *Campylobacter*

EDAD POLLOS	RESULTADOS GRANJA A					
	CALZAS		CORIOLIS			
	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
7	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0
22	1	1	1	1	1	1
28	1	1	1	1	1	1
35	1	1	1	1	1	1



EDAD POLLOS	RESULTADOS GRANJA B					
	CALZAS		CORIOLIS			
	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
7	0	0	0	0	0	0
15	1	0	1	0	1	0
22	1	1	1	1	1	0
28	1	1	1	1	1	1
35	1	1	1	1	1	1

Ambiente y *Campylobacter*

EDAD POLLOS	RESULTADOS GRANJA C					
	CALZAS		CORIOLIS			
	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
8	0	0	0	1	0	0
14	1	0	1	1	0	0
21	1	1	1	1	1	1
29	1	1	1	1	1	1
36	1	1	1	1	1	1



EDAD POLLOS	RESULTADOS GRANJA D					
	CALZAS		CORIOLIS			
	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 1	PUNTO 2	PUNTO 3	PUNTO 4
8	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
21	1	1	1	1	1	1
29	1	1	1	1	1	1
36	1	1	1	1	0	1

Ambiente y *Campylobacter*

SEGUIMIENTO DE LOTES EN MATADERO

GRANJA	EDAD (días)	Media Campy CIEGOS (log ufc/g)	Media Campy PIEL (log ufc/g)	n	muestras log<3	3<muestras log<4	muestras log>4
GRANJA A	40	5.57	2.79	5	3	2	0
GRANJA B	50	7.80	3.60	5	0	5	0
GRANJA C	48	7.72	4.03	5	0	3	2
GRANJA D	49	7.70	4.55	5	0	1	4

Ambiente y *Campylobacter*

CAMPYLOBACTER EN BEBEDEROS (TORUNDAS)

MUESTRA	CALDO	RESULTADO
1	BHI	POSITIVO
2	BHI	POSITIVO
3	BHI	NEGATIVO
4	BHI	POSITIVO
5	BHI	POSITIVO
6	NB N°2	POSITIVO
7	NB N°2	POSITIVO
8	NB N°2	POSITIVO
9	NB N°2	POSITIVO
10	NB N°2	POSITIVO



Ambiente y *Campylobacter*

- Se aislaron cepas 9 cepas de *Campylobacter* que se genotiparon con el equipo Diversilab (Rep-PCR).
- De las 9 cepas enviadas para genotipado de las superficies de los recogedores, 8 de las cepas tenían un mismo patrón génico que coincidía con el le patrón génico de las cepas aisladas de los ciegos de los pollos infectados.
- El patrón restante fue un patrón único que no coincidió con los aislado de ciegos. De estos resultados se deriva que los recogedores se contaminan mayoritariamente con las cepas que excretan los pollos al ambiente aunque el patrón génico discordante hace sospechar que los recogedores podrían ser reservorios de *Campylobacter* entre ciclos productivos.



Aditivos Frente a *Campylobacter*

Salas para pruebas de desafío con *Campylobacter*



Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en pienso individuales

ADITIVO	Inclusión (%)	ADITIVO	Inclusión (%)
Ácido heptanóico	0.5	Carvacrol	0.04
Ácido Caprílico	1	Eugenol	0.04
Ácido cáprico	1	Cinamaldehído	0.04
Ácido caproico	1	Aceite de Cilantro	0.08
Etil Caprato	1.16		

Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en pienso combinados

ADITIVO	Inclusión (%)	Condiciones
Propionato Cálcico Ácido sórbico Timol Eugenol	1	Experimentales
Mezcla de oligosacáridos	1.5	Experimentales

Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en pienso combinados

ADITIVO	Inclusión (%)	Condiciones
Polifenoles de la uva	0.8	Experimentales
Fermentado de <i>Saccharomyces boulardii</i>	1.5	Experimentales
Campylostat (Proyecto CAMPYBRO)	0.5% (0-10 d) 1.5 (10-43 d)	Reales durante todo el ciclo

Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en Agua combinados

ADITIVO	Inclusión (%)	Condiciones
Monocaprina Ácido Propiónico	1	Experimentales (3 últimos días)
Ácido fómico Ácido propiónico Formiato amónico Ácido Benzoico Ácido Acético Quitosan	1	Experimentales (3 últimos días)

Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en Agua combinados

ADITIVO	Inclusión (%)	Condiciones
Glicérido C8 y C10 Glicérido de caprílico Monobutirina Monocaprina Diglicérido de caprílico Diglicérido de cáprico	1	Reales los tres (últimos 3 días)
Extracto de Satureja sp Vitamina E Extracto de aliaceas.	0.04	Todo el ciclo

Aditivos frente a *Campylobacter*

Aditivos en Agua combinados

ADITIVO	Inclusión (%)	Condiciones
Ácido fórmico Ácido propiónico Formiato amónico Ácido acético Ácido grasos de cadena media (C8 - C10)	1	Experimentales (últimos 3 días)
Extracto de Romero Ácido carnosólico	1	Experimentales (últimos 3 días)

Proyecto CAMPYLO-PHAGE



Objetivos:

- Aplicación of Bacteriófagos en la producción primaria: Agua de bebida.
- pienso.
- Descontaminación de canales.
- Aplicación de superficies después de la L+D.



Campylobacter y metagenómica

TRATAMIENTO	GENEROS AUMENTAN	GENEROS DISMUNUYEN
Extracto Aliaceas (40 días)	<i>Bifidobacterium,</i> <i>Helicobacter, Oscillospira, Bacteroidetes,</i> <i>Flavobacterium, Campylobacter</i>	<i>Megamonas, Comprobacillus,</i> <i>Clostridium, Streptococcus,</i> <i>Enterococcus</i>
Oligosacaridos (35 días)	<i>Ruminococcus, Lactobacillus, Oscillospira,</i> <i>Flavobacterium, Coprobacillus,</i> <i>Enterococcus y Proteus</i>	<i>Clostridium, Bifidobacterium,</i> <i>Campylobacter, Streptococcus,</i> <i>Selenomonas y Actinomyces.</i>
Control (35 días)	<i>Clostridium, Bifidobacterium,</i> <i>Campylobacter, Streptococcus, Escherichia</i> <i>y, Enterococcus</i>	<i>Faecalibacterium, Blautia,</i> <i>Alkaliphilus, Oscillospira,</i> <i>Flavobacterium, Anaerofilum.</i>
Polifenoles uva (35 días)	<i>Escherichia, Streptococcus, Enterococcus,</i> <i>Clostridium,</i>	<i>Lactobacillus, Campylobacter,</i> <i>Bifidobacterium,</i>
Fermentado levadura (35 días)	<i>Coprobacillus enterococos, blautia,</i> <i>oscillospora</i>	<i>Campylobacter, Faecalibacterium,</i> <i>Escherichia, Streptococcus</i> <i>Bifidobacterium</i>

Campylobacter y metagenómica

TRATAMIENTO	Especies <i>Campylobacter</i>
Extracto Aliaceas (40 días)	<i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. volucris</i> <i>C. canadiensis</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. peloridis</i> , <i>C. subantarcticus</i> y <i>C. jejuni</i> , <i>C. faecalis</i> .
Oligosacaridos (35 días)	<i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. volucris</i> <i>C. canadiensis</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. peloridis</i> , <i>C. subantarcticus</i> y <i>C. jejuni</i>
Control Inoculado (35 días)	<i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. volucris</i> , <i>C. faecalis</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. peloridis</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. subantarcticus</i> .
Polifenoles uva (35 días)	<i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. volucris</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. peloridis</i> , <i>C.</i> <i>jejuni</i> , <i>C. subantarcticus</i> .
Fermentado levadura (35 días)	<i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. volucris</i> <i>C. canadiensis</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. peloridis</i> , <i>C. subantarcticus</i> y <i>C. jejuni</i>

ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DETECTADAS POR METAGENÓMICA EN CIEGOS

Campylobacter y metagenómica

	NO INOCULADO	INOCULADOS
Familia	Fermentado levadura vs Control	Fermentado levadura vs Control
Veillonellaceae	0.724953955	0.910389601
Desulfovibrionaceae	-0.161988585	-0.837492693
	Polifenol uva vs Control	Polifenol uva vs Control
Veillonellaceae	0.165497031	0.64159328
Desulfovibrionaceae	0.47369998	-1.339286964

- El hidrógeno molecular se libera durante la fermentación por anaerobios estrictos. Tanto Desulfovibrionaceae y Campylobacteraceae, así como Veillonellaceae, son capaces de la utilización de hidrógeno lo que puede explicar su presencia en la microbiota de pollo.
- Se ha descrito que los representantes de Bacteroidaceae son capaces de liberar sulfato desde la mucina. El sulfato liberado puede a su vez ser utilizado por Desulfovibrio, lo que que explica la alta correlación de Desulfovibrionaceae y Bacteroidaceae.

Conclusiones

- Existe una correlación entre contaminación de *Campylobacter* en ciegos y pluma con los recuentos en piel de cuello.
- Existen factores de riesgo a tener en cuenta pero estos dependen del genotipo de *Campylobacter*, y La bioseguridad puede ayudar a disminuir la incidencia pero se requiere protocolos de actuación específicos para este patógeno.
- Se requieren más datos sobre la influencia en del clareo y porque unas naves se clarean y permanecen negativas y otras no.
- Si se va a realizar intervenciones en granja debe de tenerse especial cuidado de no introducir material o equipos contaminados.
- Puede que los métodos ISO no sean eficaces para la detección *Campylobacter* en las granjas después de la L+D.
- Hasta la fecha no se ha encontrado un aditivo en pienso o en agua capaz de reducir *Campylobacter* a nivel cecal a partir de los 40 días.
- La metagenómica puede dar respuestas de cómo actuar con aditivos via pienso o agua de bebida y se necesita tener un mejor entendimiento de como interactúa *Campylobacter* con la flora del hospedador.

“MUCHAS GRACIAS”