

Frecuencia de *Campylobacter* spp en alimentos BARF para perros comercializadas en Lima, Perú

Frequency of *Campylobacter* spp in BARF food for dogs marketed in Lima, Peru

Kiara Saldaña Martínez¹, Siever Morales-Cauti^{1,2,3}

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp en alimento crudo biológicamente apropiado (BARF) para perros que se comercializan en Lima, Perú. Se recolectaron 100 muestras al azar de alimento BARF, provenientes de 10 marcas comerciales y de lotes diferentes. Se realizó el método horizontal para la detección y enumeración de *Campylobacter* spp (ISO 10272-1:2017). Se empleó el Caldo Bolton como medio de enriquecimiento y un medio selectivo CCDA, seguido de un segundo medio selectivo Karmali para *Campylobacter*. Las colonias sospechosas fueron resembradas en Agar Sangre. Cepas de *Campylobacter* spp fueron aislada en el $5 \pm 4.2\%$ (5/100) de las muestras.

Palabras clave: *Campylobacter*, contaminación, aislamiento, alimento (Fuente: MeSH)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the frequency of *Campylobacter* spp in biologically appropriate raw food (BARF) for dogs that are marketed in Lima, Peru. One hundred random samples of BARF food were collected from 10 commercial brands. Samples were collected from different batches. The horizontal method for the detection

¹ Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

² Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ E-mail: sieverm@hotmail.com

Recibido: 24 de noviembre de 2021

Aceptado para publicación: 8 de julio de 2022

Publicado: 31 de agosto de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

and enumeration of *Campylobacter* spp (ISO 10272-1:2017) was performed. Bolton Broth was used as enrichment medium and a CCDA selective medium, followed by a second Karmali selective medium for *Campylobacter*. Suspicious colonies were reseeded on Blood Agar. *Campylobacter* spp strains were isolated in $5 \pm 4.2\%$ (5/100) of the samples.

Key words: *Campylobacter*, contamination, isolation, food

INTRODUCCIÓN

El género *Campylobacter* es parte de la familia Campylobacteriaceae, y contiene 22 especies, siendo *C. jejuni* y *C. coli* las más comprometidas con enfermedades gastroentéricas de importancia en salud pública (Damborg *et al.*, 2016; Facciola *et al.*, 2017). Son bacterias comensales en humanos y animales domésticos, son bacilos delgados, curvados en espiral, gramnegativos, no formadoras de esporas y de dimensiones variables (Silva *et al.*, 2011). Son bacterias microaerófilas, que sobreviven y crecen especialmente en ambientes de baja tensión de oxígeno (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) (Facciola *et al.*, 2017).

Especies de *Campylobacter* spp son consideradas como los agentes principales de enteritis bacteriana en humanos, causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y se les considera como la causa principal de intoxicación alimentaria en Europa, Estados Unidos, Canadá y Australia (Whiley *et al.*, 2013; Damborg *et al.*, 2016). El contagio es principalmente por consumo o manipulación de carne cruda o poco cocida (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). Se tienen reportes de 8.1 y 92.9% de prevalencias de *Campylobacter* en Estonia y Argentina, respectivamente, en carne de aves y subproductos. En Perú, Lucas *et al.* (2013) encontraron 16.7% de canales de pollos y 26.7% de los ciegos positivos a *Campylobacter* spp.

El alimento BARF (*Biologically Appropriate Raw Food*) puede contener productos y subproductos de animales crudos como carne, huesos carnosos, vísceras y huevos, así como verduras y granos (Freeman *et al.*, 2013), reportándose como una adecuada opción nutricional para los perros (Runesvard *et al.*, 2020). En los Estados Unidos se realizó un estudio en 2018 sobre el consumo de estos alimentos en perros y gatos, evidenciando la mejora de la piel, el pelaje y el fortalecimiento del sistema inmune (Morgan *et al.*, 2017), siendo reconocido por la *Raw Feeding Veterinary Society* (RFVS, 2021) como una dieta estándar que no contiene suplementos sintéticos añadidos, aditivos o conservantes.

La producción, distribución y consumo de los alimentos BARF está aumentando en forma considerable; destacando los beneficios en una reducción de enfermedades dentarias, mejora en la piel y pelaje (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). Por otra parte, la carne y las menudencias pueden contener una alta carga microbiológica debido a que no han pasado por procesos para reducir o eliminar los patógenos (Hellgren *et al.*, 2019), habiéndose aislado diversos microorganismos patógenos (Strohmeyer *et al.*, 2006; Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017; Hellgren *et al.*, 2019). Se han encontrado niveles peligrosos de bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* en estos alimentos, demostrando, además, la asociación entre perros aparentemente sanos que consumían alimentos crudos y la presencia de *Campylobacter* spp (Runesvard *et al.*, 2020).

En Nueva Zelanda se ha reportado una prevalencia de 28% *Campylobacter* spp en alimentos BARF, confirmado por técnicas de PCR (Bojanic *et al.*, 2016), y de 73.2% en el Reino Unido, al analizar 489 muestras de carne cruda provenientes de pollo, ovino, porcino y res (Kramer *et al.*, 2000). Es así que, mascotas alimentadas con BARF pueden representar un riesgo de infección al hombre por *Campylobacter* (Gras *et al.*, 2013); pudiendo adquirir estas infecciones de forma accidental al manipular el alimento contaminado (LeJeune y Hancock, 2001). A partir de esto, Public Health England publicó una guía acerca del manejo y prevención de alimentos crudos para mascotas contra este riesgo sanitario (PHEAPHA, 2018).

En el Perú no existe una legislación específica para la producción y comercialización de alimentos BARF, de allí la importancia de considerar su análisis y conocer los riesgos asociados al uso de estos alimentos, tanto como para la salud animal como para la salud pública (LeJeune y Hancock, 2001; Campagnolo *et al.*, 2018). Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp en dietas BARF (Alimento crudo biológicamente apropiado) para perros en Lima, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

El análisis microbiológico se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Microscopía de la Universidad Científica del Sur, ubicada en el distrito de Villa El Salvador, Lima, Perú. Las muestras fueron de alimento BARF fueron obtenidas de diversos puntos de venta directa de los productores, localizados en la ciudad de Lima.

Se utilizó la fórmula para calcular el tamaño de muestra de poblaciones infinitas, tomando como referencia el 5% de prevalencia según el estudio de WHO (2013) en Suecia, con un 95% de confiabilidad y 5% de error. Se trabajó con 100 muestras.

Se adquirieron alimentos BARF para caninos expendidos en bolsas de 1 kg de 10 marcas y de 10 lotes entre septiembre de 2020 a enero de 2021. Todos los productos fueron adquiridos dentro de las fechas previas a su vencimiento. Las muestras fueron seleccionadas al azar, encontrándose selladas, transportadas a 4 °C y conservadas a -18 °C hasta su procesamiento en el laboratorio. Las fuentes de proteína animal de estos alimentos fueron carne de res, pollo, cerdo, equino, cordero, pavo y pato. Algunas presentaciones contenían una sola fuente proteica y en otras había combinación de estas. Asimismo, algunas incluían vísceras (hígado, pulmón y corazón), además de zanahoria, col, apio, kion, cúrcuma, pepino, espinaca, betarraga y brócoli, entre otros.

Las muestras fueron analizadas de acuerdo con el método de presencia/ausencia ISO 10272-1:2017 con algunas modificaciones. Se utilizó como medio de enriquecimiento el caldo Bolton (Neogen, USA), donde se homogenizó por 1 min una muestra de 5 g de alimento BARF en 45 ml y se procedió a incubar a 37 °C entre 4 a 6 h, luego a 41.5 °C durante 48 h. El cultivo resultante del caldo Bolton se inoculó en la superficie del medio de aislamiento selectivo Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar – CCDA (Neogen, USA) y se incubó a 41.5 ± 1 °C por 48 h.

Se procedió con un segundo sembrado en un medio de aislamiento selectivo de *Campylobacter* Karmali (Liofilchem, Italia). El caldo de enriquecimiento y las placas de agar se incubaron en una atmósfera microaerofílica (CampyGen). La identificación de *Campylobacter* se realizó según aspectos morfológicos, presentando colonias de coloración grisácea y con brillo metálico como principales características. Las colonias sospechosas se resembraron en Agar Sangre para su confirmación y se incubaron a 41.5 ± 1 °C/ 24-48 h, confirmándose finalmente con la prueba de oxidasa (ISO, 2017).

Cuadro 1. Frecuencia de muestras positivas a *Campylobacter* spp de alimentos BARF para caninos comercializadas en Lima, según la marca comercial (2021)

Marca	Muestras (n)	Positivos		IC 95%
		N	%	
A	10	2	20.0	7.8
B	10	1	10.0	5.9
C	10	0	0	0
D	10	0	0	0
E	10	0	0	0
F	10	0	0	0
G	10	1	10.0	5.9
H	10	1	10.0	5.9
I	10	0	0	0
J	10	0	0	0
Total	100	5	5.0	4.2

Los resultados se presentan mediante una tabla de frecuencia, determinándose su intervalo de confianza con un 95% de confiabilidad y un 5% de error.

RESULTADOS

Campylobacter spp fue aislado en productos de cuatro de las 10 marcas evaluadas, dando como resultado 5% de muestras positivas (Cuadro 1). La presencia de pollo fue una constante en las muestras positivas (Cuadro 2)

DISCUSIÓN

El presente estudio halló una baja frecuencia de *Campylobacter* spp (5%, 5/100), resultado similar a otros estudios donde reportan la ausencia de *Campylobacter* spp en muestras de dietas crudas para perros (Weese *et al.*, 2005) y en alimento con carne

cruda (Lenz *et al.*, 2009). La ausencia de *Campylobacter* fue asociada a las condiciones de almacenamiento, así como a la baja supervivencia de la bacteria en congelación (Suzuki y Yamamoto, 2009). Hellgren *et al.* (2019) reportaron, no obstante 5% (3/60) de muestras positivas, con una alta probabilidad de mayor presencia de *Campylobacter* antes del proceso de congelación, indicando la importancia del congelamiento, debido al posible daño sobre la estructura bacteriana. En este sentido, Fredriksson-Ahomaa *et al.* (2017) detectaron 15% de muestras con *Campylobacter* spp a través de PCR al analizar 88 muestras de alimento BARF; a pesar de que todas las muestras resultaron negativo al cultivo, reforzando el concepto del bajo nivel de supervivencia en alimentos congelados.

Las cinco muestras positivas en el estudio coincidentemente poseían como insumo la carne de pollo; lo cual tiene relación con lo mencionado por Kramer *et al.* (2000) donde las muestras de carne cruda de pollo representaron el 83.3% de la tasa de contaminación. En forma similar, Bojanic *et al.* (2017)

Cuadro 2. Frecuencia de muestras positivas a *Campylobacter* spp de alimentos BARF para caninos comercializados en Lima según la fuente proteica (2021)

Tipo de proteína animal	Muestras (n)	Positivos	
		n	%
Pollo, pavo, res	6	2	33.3
Pollo	26	2	7.7
Pollo, pato, pavo	6	1	16.7
Pollo y pavo	12	0	0
Pollo y res	12	0	0
Pavo	6	0	0
Res	12	0	0
Pavo y Res	2	0	0
Cordero	6	0	0
Res y cerdo	4	0	0
Pato y pavo	4	0	0
Total	100	5	5.0

encontraron en la carne de pollo la mayor positividad (73%), pudiendo este insumo representar un alto potencial riesgo de contaminación por *Campylobacter* spp (LeJeune y Hancock, 2001; Strohmeyer *et al.*, 2006; Damborg *et al.*, 2016). No obstante, Fredriksson-Ahomaa *et al.* (2017) reportaron el aislamiento de *Campylobacter* spp a partir de muestras de carne de res (21%), cerdo (16%) y pollo (11%). En la ciudad de Lima, Lucas *et al.* (2013); (Perú) reportaron *Campylobacter* spp en canales (16.7%) y ciegos de pollos (26.7%), reconociendo a la carne de pollo como sustrato potencial a ser contaminado y riesgo para la salud animal y salud humana (LeJeune y Hancock, 2001; Strohmeyer *et al.*, 2006).

La comercialización de alimento BARF en el país es parcialmente formal, pues no todos cuentan con registro sanitario que certifique los procesos adecuados de manufactura y comercialización. El 50% (5/10) de las marcas presentaban empaques simples, pudiéndose presumir dentro de esta informalidad que los insumos tampoco estarían pasando por controles adecuados de inocuidad, poniendo en riesgo continuo la calidad sanitaria de los alimentos BARF comercializados.

CONCLUSIÓN

Campylobacter spp fue aislada del 5% (5/100) de las muestras de alimentos BARF comercializados en Lima, Perú.

LITERATURA CITADA

1. **Bojanic K, Midwinter AC, Marshall JC, Rofers LE, Biggs PJ, Acke E. 2017.** Isolation of *Campylobacter* spp from client-owned dogs and cats, and retail raw meat pet food in the Manawatu, New Zealand. *Zoonoses Public Hlth* 64: 438-449. doi: 10.1111/zph.12323
2. **Campagnolo ER, Philipp LM, Long JM, Hanshaw NL. 2018.** Pet-associated *Campylobacteriosis*: a persisting public health concern. *Zoonoses Public Hlth* 65: 304-311 doi: 10.1111/zph.12389
3. **Damborg P, Broens EM, Chomel BB, Guenther S, Pasmans F, Wagenaar JA, Weese JS, et al. 2016.** Bacterial zoonoses transmitted by household pets: state-of-the-art and future perspectives for targeted research and policy actions. *J Comp Pathol* 155: 27-40. doi: 10.1016/j.jcpa.2015.03.004
4. **Facciola A, Riso R, Avventuroso E, Visali G, Delia SA, Lagana P. 2017.** *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J Prev Med Hyg* 58: 79-92.
5. **Fredriksson-Ahomaa M, Heikkilä T, Pernu N, Kovanen S, Hielm-Björkman A, Kivistö, R. 2017.** Raw meat-based diets in dogs and cats. *Vet Sci* 4: 33. doi: 10.3390/vetsci4030033
6. **Freeman LM, Chandler ML, Hamper BA, Weeth LP. 2013.** Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 243: 1549-1558. doi: 10.2460/javma.243.11.1549
7. **Gras L, Smid J, Wagenaar J, Koene M, Havelaar A, Friesema I, Van Pelt W, 2013.** Increased risk for *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. *Epidemiol Infect* 141: 2526-2535. doi: 10.1017/S0950268813000356
8. **Hellgren J, Hasto LS, Wilkstrom C, Fernstrom LL, Hansson I. 2019.** Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium* and *Enterobacteriaceae* in raw meat-based diets for dogs. *Vet Rec* 184: 442. doi: 10.1136/vr.105199
9. **[ISO] International Organization for Standardization. 2017.** *Microbiology of the food chain — Horizontal method for*

- detection and enumeration of *Campylobacter* spp. 2nd ed. Part 1: Detection method (Reference number: ISO 10272-1:2017).
10. **Kramer J, Frost J, Bolton F, Wareing D. 2000.** *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J Food Protect* 63: 1654-1659. doi: 10.4315/0362-028X-63.12.1654
 11. **LeJeune JT, Hancock DD. 2001.** Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *J Am Vet Med Assoc* 219: 1222-1225. doi: 10.2460/javma.2001.219.1222
 12. **Lenz J, Joffe D, Kauffman M, Zhang Y, LeJeune J. 2009.** Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. *Can Vet J* 50: 637-643.
 13. **Lucas L, Vilca L, Ramos D. 2013.** Presencia de *Campylobacter* spp en canales y ciegos de pollos de engorde en Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 24: 346-352. doi: 10.15381/rivep.v24i3.2583
 14. **[MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2019.** Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícola. [Internet]. Disponible en: <https://www.midagri.gob.pe/portal/boletin-estadistico-mensual-de-la-produccion-y-comercializacion-avicola/sector-avicola-2018>
 15. **Morgan S, Willis S, Shepherd M. 2017.** Survey of owner motivations and veterinary input of owners feeding diets containing raw animal products. *Peer J* 2: 3031. doi:10.7717/peerj.3031
 16. **[PHEPHA] Public Health England and Animal and Plant Health Agency. 2018.** Raw pet foods: handling and preventing infection. 2018. Public Health England. [Internet]. Disponible en <https://www.gov.uk/guidance/raw-pet-foods-handling-and-preventing-infection>
 17. **[RFVS]. Raw Feeding Veterinary Society.** Declaración de posición de rfvs 1.0. [Internet]. Disponible en <https://rfvs.info/declaracion-de-posicion-sobre-las-dietas-crudas/>
 18. **Runesvard E, Wikstrom C, Fernstrom L, Hansson I. 2020.** Presence of pathogenic bacteria in faeces from dogs fed raw meat based diets or dry kibble. *Vet Rec* 187: e71. doi: 10.1136/vr.105644
 19. **Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. 2011.** *Campylobacter* spp as a foodborne pathogen: a review. *Front Microbiol* 2: 200. doi: 10.3389/fmicb.2011.00200
 20. **Strohmeier RA, Morley PS, Hyatt DR, Dargatz DA, Scorza AV, Lappin MR. 2006.** Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *J Am Vet Med Assoc* 228: 537-542. doi: 10.2460/javma.228.4.537
 21. **Suzuki H, Yamamoto S. 2009.** *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *J Vet Med Sci* 71: 255-261.
 22. **Weese JS, Rousseau J, Arroyo L. 2005.** Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *Can Vet J* 46: 513-516.
 23. **Whiley H, Van Den Akker B, Giglio, S, Bentham R. 2013.** The role of environmental reservoirs in human campylobacteriosis. *Int J Environ Res Pu* 10: 5886-5907. doi: 10.3390/ijerph10-115886
 24. **[WHO] World Health Organization. 2013.** The global view of campylobacteriosis: Report of Expert Consultation. [Internet]. Available in: https://apps-who.int/iris/bitstream/handle/10665/80751/9789241564601_eng.pdf