



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“*Salmonella* spp, Resistencia a Antimicrobianos y  
Caracterización de Medidas de Bioseguridad en Sistemas  
Productivos de Traspatio Vecinos a La Reserva Nacional “El  
Yali”.**

**Rocío Alejandra Salas Soto**

Tesis para optar al Título Profesional de Médico  
Veterinario.  
Departamento de Medicina Preventiva.

Profesor Guía: Dr. Christopher Hamilton-West.

**Fondecyt 11121389**

**FIV 12101401.9102.011**

**SANTIAGO, CHILE**  
**2016**



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**“*Salmonella* spp, Resistencia a Antimicrobianos y  
Caracterización de Medidas de Bioseguridad en Sistemas  
Productivos de Traspatio Vecinos a La Reserva Nacional “El  
Yali”.**

**Rocío Alejandra Salas Soto**

NOTA FINAL: .....

FIRMA

Profesor Guía: Christopher Hamilton - West .....

Profesor Consejero: Consuelo Borie P. ....

Profesor Consejero: Santiago Urcelay V. ....

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	3
INTRODUCCIÓN.....	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
Caracterización de la industria avícola y porcina en Chile.....	7
Sistemas Productivos de Traspatio .....	8
Salmonella spp.....	10
a) Etiología.....	10
b) Reservorios .....	10
c) Transmisión .....	11
d) Epidemiología.....	12
Salmonelosis en Aves y Cerdos.....	13
Salmonelosis en Aves Silvestres.....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
HIPÓTESIS .....	17
Objetivo General.....	17
Objetivos Específicos .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Humedal Nacional El Yali.....	18
Toma de muestra.....	18
□ Objetivo N°1.....	19
□ Objetivo N° 2.....	22
□ Objetivo N° 3.....	23
RESULTADOS .....	24
Objetivo N° 1 .....	24
Objetivo N° 2 .....	27
Objetivo N°3.....	27
DISCUSIÓN.....	33

CONCLUSIÓN .....	43
BIBLIOGRAFÍA .....	45
ANEXOS .....	52
Anexo N° 1 .....	52
Límites geográficos del “Complejo de Humedales del Litoral Central” .....	52
Anexo N° 2 .....	52
Consentimiento Informado.....	52
Anexo N° 3 .....	54
Reactivos para la mezcla de la reacción de PCR convencional .....	54
Anexo N° 4 .....	54
Método de difusión en placa (Kirby-Bauer) .....	54
Anexo N°5 .....	55
Encuesta Epidemiológica.....	56

## RESUMEN

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) más importante a nivel mundial, y una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes y de alto impacto económico. En el presente estudio, se exponen los resultados sobre la prevalencia, resistencia antimicrobiana y factores de riesgo de *Salmonella* spp realizado en el Humedal Nacional “El Yali”, ubicado en la comuna de Santo Domingo, Región de Valparaíso, Chile. Este humedal es considerado una zona de alto riesgo para el ingreso de agentes zoonóticos, debido a la gran cantidad de especies de avifauna residentes y migratorias, además de que, en torno al humedal, habita un alto porcentaje de sistemas productivos de traspatio (SPT) que se caracterizan por criar aves y cerdos con escasas medidas de bioseguridad.

La población objetivo del estudio, se conformó por los SPT que se encontraban localizados dentro de un radio de 3 km desde el límite de la reserva. A su vez, se realizaron dos períodos de muestreo, el primero fue en invierno en donde se muestrearon 39 SPT (205 muestras) y el segundo fue en verano con 40 SPT (236 muestras). Las muestras fecales fueron incubadas en APT + novobiocina por 24 horas a 37°C. Posteriormente fueron transferidas a MSRV + Novobiocina por 24/48 horas a 41,5°C. Para el diagnóstico selectivo, las muestras fueron incubadas en agar XLD a 37°C por 18-20h. Finalmente, las cepas fueron confirmadas mediante PCR. En la susceptibilidad antimicrobiana, las cepas aisladas fueron testeadas frente a nueve antibióticos usando el método de difusión en disco de Kirby –Bauer. La prueba fue realizada de acuerdo a los estándares del CLSI, y como control de calidad se utilizó la cepa *E.coli* ATCC 25922. Para caracterizar las medidas de bioseguridad que realizaban los SPT, para prevenir el ingreso de agentes zoonóticos, se

realizó una encuesta epidemiológica a todos los productores que decidieron participar en el estudio.

Sólo se encontraron muestras positivas en el segundo período (verano), presentando una prevalencia animal de un 1,27% (3/236) y una prevalencia a nivel predial de un 5% (2/40). Todas las cepas fueron sensibles a los nueve antibióticos testeados. De acuerdo a la encuesta epidemiológica, se comprobó que los SPT tenían deficientes o nulas medidas de bioseguridad.

Se sugiere realizar nuevos estudios utilizando en conjunto la técnica de PCR y cultivo bacteriológico, con el fin de obtener una mejor sensibilidad en los resultados. Asimismo, se propone fortalecer programas de vigilancia epidemiológica y capacitación constante a los productores, con el objetivo de mejorar las condiciones de bioseguridad y en consecuencia evitar la presencia de agentes patógenos zoonóticos.

**Palabras claves:** *Salmonella*, Sistemas Productivos de Traspatio (STP), Humedal “El Yali”, Resistencia Antimicrobiana, Factores de Riesgo

## ABSTRACT

Salmonellosis is one of the most important food transmitted diseases and one of the most frequent zoonotic illnesses, which has a high economic impact on a worldwide scale. In the present study, you will find the results on prevalence, antimicrobial resistance and risk factors for *Salmonella* spp conducted at the National Wetland "The Yali" located in the district of Santo Domingo, Region of Valparaíso, Chile. This wetland is considered a high risk area for the entry of zoonotic agents due to the large number of resident and migratory bird species, in addition to that, around the wetland, there is a high percentage of backyard production systems (BPS) characterized by raising poultry and pigs with poor biosecurity measures.

The target population of this study was composed by BPS located within 3 km radius from the borders of the wetland. Two sampling periods were conducted, (i) winter, where 39 BPS were sampled (205 samples) and (ii) summer with 40 BPS sampled (236 samples). Samples were incubated in "Buffered Peptone Water + novobiocin" for 24 h/37°C. One hundred µl of the incubated BPW were transferred to Modified Semisolid Rappaport-Vassilliadis (MSRV) + novobiocin and incubated 24/48 h/41.5 °C. For the selective diagnosis, samples were incubated in XLD agar for 18–20 h/37°C. Finally, the strains were confirmed by PCR. For antimicrobial susceptibility, isolates strains were tested to 9 antimicrobials using the Kirby–Bauer disk diffusion method. The test was performed using the CLSI, and as quality control, the strain ATCC 25922 was used. To characterize the biosecurity measures being taken by BPS, to prevent the entry of zoonotic agents, an epidemiological survey was conducted to all producers who chose to participate in the study.

Positive samples were only found in the second period (summer), presenting an animal prevalence of 1.27% (3/236) and farm prevalence of 5% (2/236). All strains were sensitive to the nine tested antibiotics. According to the epidemiologic survey, it was found that the BPS had poor or no biosecurity measures.

It is suggested to make further studies using both techniques, PCR and bacterial crop, in order to get a better sensitivity of the results. Furthermore, it is suggested to strengthen epidemiological surveillance programs and ongoing training for producers in order to improve biosafety conditions and consequently prevent the presence of zoonotic pathogenic agents.

**Keywords:** *Salmonella*; Backyard Poultry production systems (BPS), Biosecurity, “El Yali” wetlands; Antimicrobial Resistance; Risk Factors.

## INTRODUCCIÓN

Las aves silvestres, tienen un rol significativo en la transmisión y diseminación de muchas enfermedades zoonóticas emergentes. Ya que, debido a su migración, pueden convertirse en vectores de largo alcance para cualquier bacteria, virus, parásitos u organismos resistentes a medicamentos, incluso si las aves no son un reservorio competente de la infección. Los humedales son un hábitat importante para las aves, en especial, para las aves acuáticas, debido a que les ofrecen un ecosistema óptimo para el refugio, alimentación, nidificación, cría y muda del plumaje (Blanco, 1999). Además, cada año, una densidad elevada de aves migra hacia los humedales utilizándolos como sitios de descanso, de tránsito, o como hábitat de invernación (Berlanga *et al.*, 2008). De esta forma, las aves migratorias, se entremezclan con las aves residentes, entre ellas las aves domésticas, representando un peligro para la diseminación de patógenos, debido al permanente contacto que existe entre ellas (Jahn *et al.*, 2006; Hamilton-West *et al.*, 2012).

Tal es el caso, del humedal nacional “El Yali”, el cual es considerado un humedal de alto riesgo para el ingreso de agentes patógenos a causa de la gran cantidad de especies de avifauna que residen y llegan cada año en sus desplazamientos migratorios (Gallardo y Meza, 2012). Sumado a esto, en torno al humedal, existe un alto porcentaje de sistemas productivos de traspatio (SPT), los cuales son la forma más común de producción animal a nivel mundial (Hamilton-West *et al.*, 2012), y se caracterizan por criar aves de corral, seguido de la producción porcina como una actividad complementaria (Ruiz, 2013). De manera que, estas dos condiciones, favorecen el posible ingreso, mantención y diseminación de agentes zoonóticos.

A pesar de la gran variedad de agentes zoonóticos que puedan significar un peligro para estos sistemas productivos, se analizará el caso específico de *Salmonella* spp, el cual es un enteropatógeno zoonótico que produce salmonelosis, una de las principales enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) a nivel mundial. Su amplia distribución entre la naturaleza, los animales domésticos y el medio ambiente ha generado una rápida propagación de sus más de 2.500 serotipos en los seres humanos. Asimismo, las aves de corral y los cerdos son las principales especies animales susceptibles de transmitir en forma natural esta infección. Por otra parte, este patógeno, genera un grave problema en salud pública, principalmente por el aumento de tratamientos fallidos, causados principalmente por el uso indiscriminado de antibióticos en pacientes humanos y el ganado de producción.

Por los motivos anteriormente mencionados, el presente estudio buscó determinar a nivel predial la prevalencia de *Salmonella* spp y su resistencia antimicrobiana, junto con los factores de riesgo que favorezcan la introducción de agentes zoonóticos, en los SPT que mantengan aves y/o cerdos pertenecientes a la Reserva Nacional “El Yali”, ubicada en la comuna de Santo Domingo, Región de Valparaíso.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Caracterización de la industria avícola y porcina en Chile

La industria avícola nacional se ha convertido en la principal productora de carnes en Chile (Echávarri y De La Fuente, 2012a). Está concentrada en la zona central del país, entre las regiones de Valparaíso, Libertador General Bernardo O'Higgins y Metropolitana (APA-ASOHUEVO, 2006; Hamilton-West, 2010; Rojas y Moreira, 2009). En cuanto a la producción de carne, existen sólo ocho empresas que operan en el país, tres para la producción de carne de pavo y cinco para la de pollos broiler (Echávarri, 2011). Por otra parte, la industria del huevo, está conformada por un gran sector industrial y una producción de traspatio (pequeños productores), cuya producción es menos relevante para la economía nacional, pero juega un rol socioeconómico de importancia. El sector industrial está en manos de aproximadamente treientos productores, dentro de los cuales destacan once grandes productores y comercializadores que se ubican básicamente en la zona central del país (Giacomozzi, 2014).

En relación con la población porcina en Chile, existen sesenta y ocho planteles porcinos distribuidos entre las regiones de Atacama y La Araucanía. La mayor producción se localiza en la Región del Libertador Bernardo O'Higgins, seguida por la Metropolitana. Esta actividad se ha ido concentrando, ya que en el año 2000 existían ciento noventa y siete establecimientos, indicando una reducción de un 65,5%. Sin embargo, esta disminución no se vio reflejada en la producción de carne, ya que ésta ha ido creciendo desde 261.477 toneladas durante el año 2000 a 527.857 toneladas anuales en el año 2011, es decir, ha experimentado un aumento en la producción de 102% durante este período (Echávarri y De La Fuente, 2012b).

En cuanto al consumo per cápita de proteína animal en Chile, en el año 2012, fue de 87,2 kg por habitante al año. Dicho incremento, ha estado basado principalmente en la carne de ave y de cerdo, las que han ido creciendo durante la última década, a tasas de 2,2 y 3,6% anual, respectivamente. El consumo per cápita en el año 2012, para la carne de ave fue de 37 kg y para la carne de cerdo de 27 kg por habitante (ANÓN, 2013). Por otra parte, el consumo de huevo per cápita para el año 2013 fue de 174 unidades por persona, equivalente a 10,4 kg por habitante al año con una producción de más de 3 mil millones de unidades (Giacomozzi, 2014).

### Sistemas Productivos de Traspatio

Los sistemas productivos de traspatio (SPT) son la forma más común de producción animal a nivel mundial, siendo uno de los principales medios de subsistencia de pequeños agricultores (Hamilton-West *et al.*, 2012). Las aves de corral son la especie animal más habitual, pudiéndose considerar a la producción porcina como una actividad complementaria. No obstante, los cerdos, al igual que las aves, forman parte del ganado menor, proporcionando una alternativa viable que puede ser fácilmente adoptada por los pequeños agricultores.

Los SPT se caracterizan por poseer aves de corral, con bajas medidas de bioseguridad, rebaños pequeños de aproximadamente treinta y siete aves y con varias razas mezcladas dentro del mismo grupo. Las aves interactúan estrechamente con los humanos, así como con las aves silvestres y los animales domésticos (Conan *et al.*, 2012). Cabe destacar, que las aves son sacrificadas y preparadas *in situ*, es decir, sin un proceso que incluya a una planta faenadora; por lo que la carne y los subproductos obtenidos de

ellas, en general, son utilizados para el consumo familiar o para la venta local, y no tienen conexiones funcionales con los establecimientos industriales (Ruiz, 2013).

La mayoría de los propietarios, no aplican principios básicos de higiene y de bioseguridad, tal como, desinfección de manos al tener contacto con los animales, medidas de cuarentena, entre otros, por lo que tienen el potencial riesgo de infectarse con agentes zoonóticos que puedan poseer sus animales. Al mismo tiempo, las aves enfermas pueden ser manipuladas, vendidas, sacrificadas y consumidas sin considerar que la infección que enfermó al animal puede ser dañina para el hombre (Hamilton-West *et al.*, 2010).

Los SPT se caracterizan por mantener a sus aves bajo confinamiento mixto, es decir, durante el día las aves deambulan libremente en las cercanías de la casa, pero por la noche se mantienen encerradas. En cuanto a su alimentación, en general, se basa en lo que las aves puedan recolectar cuando están libres y en algunos casos es suplementada con una cantidad limitada de granos y restos de la cocina (Ruiz, 2013).

En relación a los factores de riesgo para la introducción de agentes patógenos en los SPT, se encuentran: la cercanía con los humedales costeros, en donde las aves migratorias llegan cada año, aumentando las probabilidades de introducir enfermedades infecciosas y, al mismo tiempo, el riesgo de diseminación de ellas (Hamilton-West *et al.*, 2012). Con respecto al manejo de las mortalidades de las aves, también se considera un factor de riesgo, debido que, muchos de ellos, al morir sus aves las depositan en las zonas de humedales, lo cual representa otra fuente de transmisión de patógenos entre las aves de corral y las aves silvestres (Hamilton-West *et al.*, 2012).

### Salmonella spp.

#### a) Etiología

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, integrada por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, de 2 a 4 micras de longitud, tienen flagelos peritricos y fimbrias a excepción de *S. Pullorum* y *S. Gallinarum*, las cuales son inmóviles. Son fermentadoras de la glucosa pero no de la lactosa, catalasa positiva, oxidasa y ureasa negativas (ISP, 2012). En la actualidad *Salmonella* posee más de 2500 serovariedades diferentes (Palmgren *et al.*, 2006; ISP, 2014), los cuales varían según localidad, distrito, región y país (OIE, 2015). Algunos serotipos han desarrollado adaptaciones específicas a un hospedero, sin embargo, la mayoría de ellos son inespecíficos y pueden encontrarse en un gran número de animales (Palmgren *et al.*, 2006).

#### b) Reservorios

*Salmonella* está ampliamente distribuida en la naturaleza, sin embargo, su principal hábitat es el tracto intestinal de los animales domésticos y silvestres de diversos tipos (Srianta *et al.*, 2009), tales como porcinos, bovinos, aves silvestres y de corral, roedores, iguanas, tortugas, perros y gatos (Uribe y Suárez, 2006), además de las personas que también pueden ser reservorios de la bacteria (Srianta *et al.*, 2009). Sin embargo, *Salmonella* pareciera ser más prevalente en áreas de producción animal intensiva, especialmente de aves y cerdos (OIE, 2010). Como reservorios secundarios se encuentran el agua de pozos, suelo, camas para crianza y carcasas, y cualquier material con

contaminación fecal (Uribe y Suárez, 2006; OIE, 2010). Los microorganismos sobreviven durante períodos muy largos, pero no se multiplican normalmente como en los sistemas digestivos de sus potenciales hospederos (Uribe y Suárez, 2006).

c) Transmisión

Las infecciones por *Salmonella* en los animales desempeñan un importante papel en la salud pública, y concretamente en la inocuidad de los alimentos, ya que los alimentos de origen animal se consideran como la principal fuente de transmisión de la bacteria hacia el hombre (OIE, 2010). Los vehículos más comunes son las carnes contaminadas de aves, cerdos y bovinos, el huevo, la leche y los subproductos de ambos (Acha y Szyfres, 2001). Es necesario recalcar que, los huevos contaminados, crudos o mal cocidos son la principal causa de salmonelosis (ISP, 2012).

La mayoría de los animales se contaminan en el medio ambiente, a través de las deposiciones y la ingestión de agua o alimentos contaminados y actúan como transmisores (Acha y Szyfres, 2001; Uribe y Suárez., 2006; Hilbert *et al.*, 2012). La presencia de *Salmonella* en los alimentos resulta ser la fuente más común de introducción de nuevas cepas de la bacteria en producciones de ganado (OIE, 2010). Sumado a esto, el manejo inadecuado de los alimentos, el mal procesamiento y almacenamiento; la falta de higiene y el saneamiento; además de la contaminación cruzada, son factores que facilitan la diseminación de la bacteria (Srianta *et al.*, 2009; Acha y Szyfres, 2001).

Del mismo modo, se ha identificado alimentos de origen vegetal como vehículos de la salmonelosis humana (Acha y Szyfres, 2001). Tal como, las verduras frescas han sido implicadas en brotes de ETAs, producidos por *Salmonella*. Hilbert *et al.*, (2012) mencionan que las verduras se contaminan a través de la eliminación fecal de aves

silvestres o por medio de aguas contaminadas usadas para el riego o, a través del uso de estiércol debido a la introducción de altas dosis de la bacteria. Por otra parte, los insectos, en particular las moscas, pueden tener cierta participación como vectores mecánicos en ambientes muy contaminados (Acha y Szyfres, 2001). Andrés *et al.*, (2013) y Hilbert *et al.*, (2012) en sus estudios experimentales han demostrado que la bacteria es capaz de sobrevivir e incluso replicar en los insectos. Más aún, Hilbert *et al* (2012) han documentado que el patógeno puede transmitirse desde los animales domésticos a los insectos, entre insectos y desde los insectos a las aves y roedores.

d) Epidemiología

*Salmonella* causa una enfermedad infecciosa denominada salmonelosis (OIE, 2012; CDC, 2011). Se notifica con mayor frecuencia en países desarrollados, no porque tengan mayor frecuencia sino porque ellos poseen mejores sistemas de notificación (Caffer y Terragno, 2001; Silva *et al.*, 2003). En EEUU, cada año son reportados 40.000 casos de salmonelosis, sin embargo, debido a que muchos casos no son diagnosticados, el número real de la infección puede ser treinta o más veces mayor (CDC, 2012). A su vez, en la Unión Europea (UE), más de 100.000 casos humanos de *Salmonella* son reportados cada año, según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el 2014, ha estimado que el costo económico de salmonelosis humana es de aproximadamente 3.000 millones de euros al año.

La salmonelosis es más común en verano que en invierno. Los niños menores de 5 años, los ancianos y los pacientes inmunocomprometidos, son los más susceptibles de contraer la bacteria y desarrollar la enfermedad grave (CDC, 2012). *S. Enteritidis* es el serotipo más prevalente en el mundo, seguido de *S. Typhimurium* (Silva *et al.*, 2003).

En Chile, hasta finales de agosto del 2014 se notificaron 667 brotes de ETAs, de los cuales sólo el 8% fue identificado el agente causal, siendo *Salmonella* spp. el más frecuente (ISP, 2014). Los principales alimentos de los cuales provenían las ETAs fueron principalmente la carne de ave (54%), seguida por los huevos y ovoproductos (15%), considerándose productos de alto riesgo para la transmisión de la bacteria hacía las personas. El alimento involucrado con mayor frecuencia en los brotes notificados, correspondió a la mayonesa elaborada con huevos frescos; reportándose principalmente la ocurrencia de brotes en el hogar, restaurantes y comercio ambulante (MINSAL, 2011).

Con respecto al tratamiento, las infecciones por *Salmonella* Enteritidis son autolimitantes, la terapia antibiótica no es apropiada en los casos no complicados de gastroenteritis. Cuando la enfermedad se complica y se torna sistémica se recomienda el uso de antibióticos (Chávez-de la Peña *et al.*, 2001; Parra *et al.*, 2002; Acha y Szyfres, 2001). No obstante, el uso indiscriminado de antibióticos en la medicina humana y veterinaria, han favorecido el desarrollo de cepas resistentes a los tratamientos (Parra *et al.*, 2002). Sin embargo, los resultados obtenidos por el ISP (2014) en sus análisis de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella*, entre los años 2009 al 2014, evidenciaron que, en general, las cepas chilenas intestinales aisladas de humanos, presentan una alta sensibilidad a antimicrobianos de uso clínico, siendo el serotipo Typhimurium el que presenta un menor porcentaje de sensibilidad.

#### Salmonelosis en Aves y Cerdos

Las aves de corral y los cerdos, pueden estar infectados con *Salmonella* sin manifestar la enfermedad clínica (OIE, 2012), y al mismo tiempo, pueden diseminar la

bacteria en el ambiente o a través de sus subproductos, tales como, la carne y el huevo, pudiendo producir consecuencias significativas en la salud pública (SVA, 2011).

Las aves de corral son consideradas uno de los principales reservorios de las salmonelas, ya que pueden infectarse con diferentes serotipos, siendo *S. Pullorum* y *S. Gallinarum*, los más adaptados a ellas, sin embargo, son poco patógenos para el hombre (SVA, 2011). En cuanto a los cerdos, son el reservorio principal de *S. Choleraesuis*, sin embargo, pueden ser hospederos de numerosos serotipos. Los cerdos entre dos y cuatro meses, son los más susceptibles de contraer la enfermedad, teniendo la facultad de producir brotes epidémicos, no obstante, los adultos también pueden desarrollar la enfermedad pero casi siempre en casos aislados (Acha y Szyfres, 2001).

En cuanto a la prevalencia de *Salmonella* spp. en animales domésticos de Chile, esta ha ido variando en el transcurso de los años, dependiendo de la especie. Por ejemplo, en pollos desde el 2010 al 2013, ha disminuido desde un 5% a un 2%, a diferencia de lo que ocurre en pavos que, desde el 2009 al 2013 ha ido aumentando desde un 3% a un 13% (Maldonado, 2014). En el caso de los huevos, estudios microbiológicos de vigilancia en Chile, señalan que uno de cada mil muestras de huevo en venta están contaminados con *S. Enteritidis* (ISP, 2009).

### Salmonelosis en Aves Silvestres

Las aves silvestres, tienen un rol significativo en la transmisión y diseminación de muchas enfermedades zoonóticas emergentes (Fischer y Gerhold, 2002; Reed *et al.*, 2003). Pueden convertirse en vectores de largo alcance de cualquier microorganismo, incluso si no son un reservorio competente de la infección, es decir, las aves pueden portar y diseminar el agente patógeno, y al mismo tiempo, no desarrollar la enfermedad.

En consecuencia, tienen el potencial para la creación de nuevos focos endémicos de enfermedades emergentes o reemergentes a lo largo de sus rutas migratorias (Reed *et al.*, 2003; Tsiodras *et al.*, 2008).

La salmonelosis es considerada como una enfermedad emergente en las aves silvestres, ya que su prevalencia ha ido aumentando considerablemente en los últimos 40 años como resultado del aumento de la alimentación artificial por los seres humanos (Tizard, 2004). Numerosas especies de aves son atraídas por las aguas residuales sin tratar, vertederos de basura, estiércol y otras fuentes de patógenos entéricos, exponiéndose a contraer la enfermedad (Reed *et al.*, 2003; Tsiodras *et al.*, 2008; Andrés *et al.*, 2013). Así mismo, factores como estacionalidad, tipo de alimentación y patrones de migración pueden influir en la prevalencia de la bacteria.

Por otra parte, en cuanto a la participación de las aves silvestres en la transmisión de *Salmonella*, Fischer y Gerhold (2002) señalaron que, ellas no suelen ser las portadoras de las principales especies o cepas patógenas que afectan a las aves de corral. En efecto, el enteropatógeno más comúnmente encontrado en estas aves es *Salmonella* Typhimurium, y se ha asociado con importantes mortandades de varias especies de aves (Reed *et al.*, 2003; Tsiodras *et al.*, 2008).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitida por alimentos (ETA) más importante a nivel mundial, y una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes y de alto impacto económico (Shirota *et al.*, 2012; OIE, 2012). En Chile, la salmonelosis y especialmente la *Salmonella* Enteritidis constituye un problema de salud pública de relevancia (ISP, 2014). Los principales alimentos de los cuales proviene la salmonelosis

son: la carne de ave (54%), seguida por huevos y ovoproductos (15%), considerándose productos de alto riesgo para la transmisión de cuadros clínicos.

En Chile, el consumo de proteína animal cada vez va en aumento. En el año 2012, el consumo de carne por habitante fue de 87,2 kg siendo principalmente, la carne de ave y cerdo, las más consumidas (ANÓN, 2013). Por este motivo, los sectores industriales invierten con especial preocupación en temas relacionados en sanidad animal e inocuidad alimentaria, instaurando las medidas requeridas por el SAG, para obtener altos estándares en bioseguridad. Sin embargo, además de los sistemas industriales, existe un número importante de pequeños productores que crían este tipo de animales, especialmente en las zonas rurales. Conformando un total de 150 mil agricultores, con más de 3,7 millones de aves de corral y 400 mil cerdos (Hamilton West *et al.*, 2012), los cuales se caracterizan por realizar mínimas o nulas medidas de bioseguridad, teniendo el potencial riesgo de infectarse con agentes zoonóticos que puedan poseer sus animales. Además, al contrario de lo que ocurre en los sistemas industriales, la información existente en cuanto a este tipo de producción es bastante limitada.

En atención a la problemática expuesta, además de la poca información y caracterización de este tipo de producción, la presente investigación se decidió realizar en los SPT vecinos al Humedal Nacional “El Yali”. Puesto que, los productores que habitan en el lugar, se caracterizan por criar aves y cerdos, que como se mencionó anteriormente, son los animales más susceptibles de transmitir a la bacteria. Por otra parte, el humedal debido a la gran cantidad de especies de aves silvestres que lo visitan, es considerado una zona de alto riesgo para el ingreso de agentes patógenos.

## HIPÓTESIS

Existen cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos, en aves y/o cerdos mantenidos en SPT vecinos a la Reserva Nacional “El Yali”, producto de las precarias condiciones de bioseguridad y del contacto permanente entre las aves silvestres y los animales domésticos.

### Objetivo General

Determinar la prevalencia, resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp en aves y/o cerdos mantenidos en SPT vecinos a la Reserva Nacional “El Yali” y caracterizar sus medidas de bioseguridad.

### Objetivos Específicos

- 1) Determinar prevalencia a nivel predial de cepas de *Salmonella* spp, en muestras provenientes de heces de aves y/o cerdos, presentes en SPT de la Reserva Nacional “El Yali”.
- 2) Determinar la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella*, aisladas de aves y/o cerdos presentes en SPT de la Reserva Nacional “El Yali”.
- 3) Identificar y caracterizar las medidas de bioseguridad que realizan los SPT presentes en el humedal Nacional “El Yali”.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Humedal Nacional El Yali

El presente estudio fue realizado en los SPT vecinos a la Reserva Nacional “El Yali”. La reserva, constituye el complejo de humedales más importante de Chile Central y fue declarado sitio Ramsar en 1996 (Vidal-Abarca *et al.*, 2011), es decir, está asociado a la Convención Relativa de los Humedales de Importancia Internacional especialmente como hábitat de aves acuáticas (Gallardo y Meza, 2012). Se encuentra localizado en la comuna de Santo Domingo, provincia de San Antonio, Región de Valparaíso, y posee una superficie de 11.500 ha, de las cuales 520 ha están protegidas como reserva Nacional, agenciadas por la Corporación Nacional Forestal (CONAF). El humedal, se destaca principalmente, por la gran cantidad de especies de avifauna, tanto residentes, ocasionales y migratorias, albergando a más de 115 especies de aves que representan el 25% del total de especies que existen en Chile, además de refugiar a unas 18 especies de aves migratorias procedentes del hemisferio norte (Gallardo y Meza, 2012).

La población objetivo del estudio, se conformó por los SPT que poseían aves o cerdos o ambos, y que se encontraban localizados dentro de un radio de 3 km desde el límite de la reserva (Anexo N°1). Se definió como SPT a los planteles que su población variaba entre 1 y 100 aves y/o entre 1 y 50 cerdos.

### Toma de muestra

Antes de empezar la toma de muestras, se realizaron las medidas de bioseguridad necesarias recomendadas por el SAG (2006a), que se encuentran en su instructivo de

“Bioseguridad personal durante el manejo de aves”, el cual señala que, antes de ingresar a las instalaciones y antes de tener contacto con los animales, se debe proceder a colocar el equipo de bioseguridad personal, el cual incluye buzo, botas, mascarilla, gafas, guantes y gorro. Además, a la entrada de cada granja se debe utilizar un pediluvio para la limpieza y desinfección de las botas. Posteriormente, al salir del establecimiento, el Médico Veterinario deberá sacarse el buzo, la mascarilla y los guantes desechables. Finalmente estos elementos deberán colocarse en una bolsa plástica para su posterior autoclavado.

Se recolectaron muestras ambientales, muestras cloacales de aves y/o muestras rectales de cerdos. El tamaño de la muestra fue de 5 aves y/o 3 de cerdos por SPT. Además, se realizaron dos períodos de muestreo, uno en invierno y otro en verano, con el fin de observar si las aves silvestres podrían influir en la prevalencia de la bacteria. Para realizar el estudio, se solicitó un consentimiento informado escrito para todos los productores que desearon participar, el cual se encuentra en el Anexo N°2.

- Objetivo N°1

**Determinar prevalencia a nivel predial de cepas de *Salmonella* spp, en muestras provenientes de heces de aves y/o cerdos, presentes en SPT en la Reserva Nacional “El Yali”.**

Se determinó la prevalencia a nivel predial considerándose como traspatio positivo aquel que presentó al menos una muestra fecal positiva. Se obtuvieron muestras fecales frescas de aves y/o cerdos, además de muestras ambientales que fueron tomadas desde el suelo, corrales y camas. Éstas, fueron guardadas en un medio especializado para el transporte llamado, Cary-Blair (Venturi Transystem ®) y se rotularon con la identificación del SPT, la especie animal y el número de la muestra. Las muestras fueron mantenidas en

un *cooler* con *ice pack* durante todo el día hasta que eran guardadas en el refrigerador del “Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria” (LACIV) de la Universidad de Chile a 4° C esperando a ser analizadas en un máximo de una semana posterior a su ingreso al laboratorio.

Antes de analizar las muestras, se realizaron las medidas de bioseguridad establecidas por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, que se encuentran en su instructivo “Normas de Bioseguridad” (Retamal, 2011). Dentro de las principales medidas que se debían realizar eran: El uso obligatorio de delantal y guantes, el uso de pantalones largos y zapatos cerrados y en caso de tener el pelo largo, el uso de pinches que mantengan el pelo fijo. Como se trabajó con enterobacterias, se debía trabajar en la cabina de bioseguridad clase II, o en el mesón alrededor de un mechero encendido. En cuanto a la limpieza y desinfección, era fundamental utilizar alcohol al 70% como desinfectante de manos y superficies de trabajo en forma rutinaria, asimismo, el equipo y las superficies debían limpiarse y desinfectarse antes y después de ser utilizadas. La luz UV usada para esterilizar el área de trabajo en las cabinas de bioseguridad, solo podía ser utilizada por diez minutos, antes o después de algún procedimiento experimental y durante este tiempo, estaba estrictamente prohibido trabajar en el área.

**Análisis de las muestras.** El análisis de las muestras se basó en el “Instructivo: Aislamiento de Salmonella desde Heces” establecido por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Retamal, 2011a). Las muestras se llevaron a un medio de pre-enriquecimiento con Agua Peptonada Fosfatada (APT, Difco®) + novobiocina (20 ug/mL) durante 24 horas a 37°C. Luego, pasaron a un medio de enriquecimiento, en el cual se utilizó el agar semisólido

Rappaport Vassiliadis (MSRV, Oxoid®) + novobiocina (20 ug/mL) durante 24-48 horas a 41,5° C. Para el diagnóstico selectivo, las muestras fueron sembradas por agotamiento en agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD, Difco®) y fueron incubadas por 24 horas a 37°C. Finalmente, las muestras que presentaron un crecimiento sospechoso de *Salmonella*, es decir, que presentaban un precipitado negro o traslúcido fueron confirmadas mediante la Reacción en cadena de polimerasa (PCR).

**Confirmación mediante PCR.** La confirmación de las muestras se basó en el “Instructivo: Reacción de PCR” establecido por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Retamal, 2011b). En la prueba de PCR se buscó la detección del gen *invA*, el cual es un gen importante en la virulencia de *Salmonella* spp, además de presentar una gran estabilidad desde el punto de vista genético (Chacón *et al.*, 2010). Para ello, primero se extrajo el DNA bacteriano (templado), a través del método de ebullición, el cual consistía en: Por cada muestra a analizar, se añadían 100 µL de agua para PCR destilada y desionizada en un eppendorf estéril de 0,2 mL, luego con un asa de siembra se tomaron 2-3 colonias sospechosas de la placa con agar XLD y se introdujeron en el eppendorf, mezclándose con el agua para PCR. Los eppendorf fueron centrifugados durante 3 minutos a 10.000 rpm, luego fueron hervidos a 100°C durante 15 minutos y finalmente centrifugados durante 5 minutos a 12.000 rpm. Después de extraer el templado, se procedió a preparar el mix con los reactivos mencionados en el anexo N° 3, junto con los partidores 139 y 141, que tienen una amplificación de 284pb y son específicos para el gen *invA* (Malorny *et al.*, 2003). A cada eppendorf, se le introdujo un volumen final de 10 µL, de los cuales 9 µL eran del mix y 1µL del templado, luego se les realizaba un spin y

posteriormente eran amplificados en el termociclador MultiGene mini personal thermal cycler.

Finalmente, se procedió a realizar la electroforesis de acuerdo al instructivo: Electroforesis en gel de agarosa, establecido por el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Retamal, 2011c).

Para preparar el gel, se diluyó la agarosa al 1,5% en buffer TAE 1x, y se llevó a ebullición en microondas hasta su dilución completa. Luego, se agregó 5 µL de GelRed® por cada 100mL de agarosa. La solución fue dispensada en la cámara de electroforesis, y cuando el gel se solidificó, se cargaron 5µL de cada muestra amplificada, incluyendo el marcador de peso molecular (Axygen®) para la estimación del tamaño de los fragmentos, asimismo, se añadió como control positivo una cepa de *S. Enteritidis* donada por el laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la facultad y como control negativo se utilizó un eppendorf con el mix de PCR sin el templado. La amplificación resultante del PCR se llevó a voltaje constante (100 mV) durante 60 minutos. Finalmente, para visualizar los resultados, el gel fue depositado en la ventana del transiluminador BioSens SC750.

- Objetivo N° 2

**Determinar la resistencia antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp aisladas de aves y/o cerdos presentes en SPT.**

Las cepas aisladas durante el período fueron testeadas para verificar susceptibilidad a 9 antibióticos: Ampicilina 10ug (Valtek S.A.®), Acido Nalidixico 30ug (Valtek S.A.®), Cefotaxima 30ug (Valtek S.A.®), Ciprofloxacina 5ug (Valtek S.A.®), Cloramfenico 30ug (Valtek S.A.®), Estreptomicina 10ug (Valtek S.A.®), Gentamicina 10ug (Valtek S.A.®),

Sulfatrimetoprim 25ug (Valtek S.A.®), Tetraciclina 30ug (Valtek S.A.®). Se utilizó el método Kirby- Bauer (Anexo N°4) bajo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Como método de control, se utilizó la cepa E. coli ATCC 25922 (CLSI, 2007).

Las bacterias fueron sembradas en agar tripticasa soya (TSA) y fueron incubadas por 24 hrs a 37°C. Se tomó una colonia de cada placa y fueron cultivadas en caldo Mueller Hinton (MH) por 24 hrs a 37°C. Para estandarizar la densidad del inóculo a 0,5 McFarland, se utilizó un BioSpec-mini espectrofotómetro Shimadzu con una absorbancia de 625 nm de 0,08 a 0,10. Se utilizó como blanco 5mL de NaCl al 0,8% más 600mg de caldo MH. Posteriormente, cada cepa fue sembrada en 2 placas de agar MH, colocando un máximo de 5 sensidiscos por placa y fueron incubadas por 24 hrs a 37°C. Finalmente, con un vernier de precisión se midió el diámetro del halo de inhibición de cada antibiótico frente a las diferentes cepas y fueron clasificadas como sensible, intermedio o resistentes de acuerdo a los estándares de la CLSI (2007).

- Objetivo N° 3

**Identificar y Caracterizar las medidas de bioseguridad que realizan los SPT presentes en el humedal Nacional “El Yali”.**

Para determinar las medidas de bioseguridad que realizaban los productores en los SPT, se trabajó en conjunto con una segunda tesis, denominada “Identificación de factores que permiten la circulación de patógenos zoonóticos entre aves silvestres y animales domésticos, en las cercanías de la Reserva Nacional El Yali” (Meza, 2013) la cual mediante una entrevista personal realizada a los responsables del manejo de los animales, se realizó una encuesta epidemiológica (Anexo N°5).

Dentro de las variables incluidas en la encuesta, se encuentran: estructura de los SPT, tipo de manejo, medidas de bioseguridad, entre otras. La encuesta fue previamente validada en terreno en la localidad de María Pinto, administrándose en forma aleatoria a diversos productores, permitiendo evaluar la claridad de las preguntas. Para el análisis de los datos se utilizaron herramientas de estadística descriptiva.

## **RESULTADOS**

### Objetivo N° 1

**Determinar prevalencia a nivel predial de cepas de Salmonella spp, en muestras provenientes de heces de aves y/o cerdos, presentes en SPT en la Reserva Nacional “El Yali”.**

El muestreo de la presente investigación fue realizado en dos períodos, el primero fue en el año 2013, entre los meses de julio a agosto (Invierno) y el segundo en el año 2014 durante el mes de marzo (Verano). En el primer período, se determinó cuantos SPT se encontraban dentro de un radio de 3 km desde el límite de la reserva, encontrándose dentro del área delimitada al sector Las Salinas y al sector El Convento, un total de 46 SPT. En la Figura N° 1 se presenta la distribución espacial de los SPT.

**Figura N°1.** Distribución espacial de los SPT vecinos al humedal “El Yali”.

Es importante mencionar que todos los productores accedieron a participar en la encuesta epidemiológica. Sin embargo, al momento de la toma de muestra, algunos productores se arrepintieron de participar en el estudio. En consecuencia, en el primer período, se pudo muestrear 39 traspatios, obteniendo un total de 205 muestras y en el segundo período, 40 traspatios, con 236 muestras. Dentro de las muestras obtenidas se encuentran: muestras ambientales, gallina doméstica, cerdos, patos, pavos y gansos. Los datos obtenidos se encuentran resumidos en la tabla N°1.

Al analizar las muestras, en el primer período de las 205 muestras, no se encontraron muestras positivas a la bacteria. Sin embargo, en el segundo período de las 236 muestras analizadas, se encontraron tres muestras positivas a *Salmonella* spp, las que fueron aisladas de heces de gallina doméstica sin síntomas de enfermedad, siendo dos de ellas del mismo SPT ubicado a orillas del humedal. Las muestras fueron confirmadas mediante la técnica de PCR a través de la detección del gen *invA* (Figura N°2). Finalmente, en el segundo período, se encontró una prevalencia animal de un 1,27% (3/236) y una

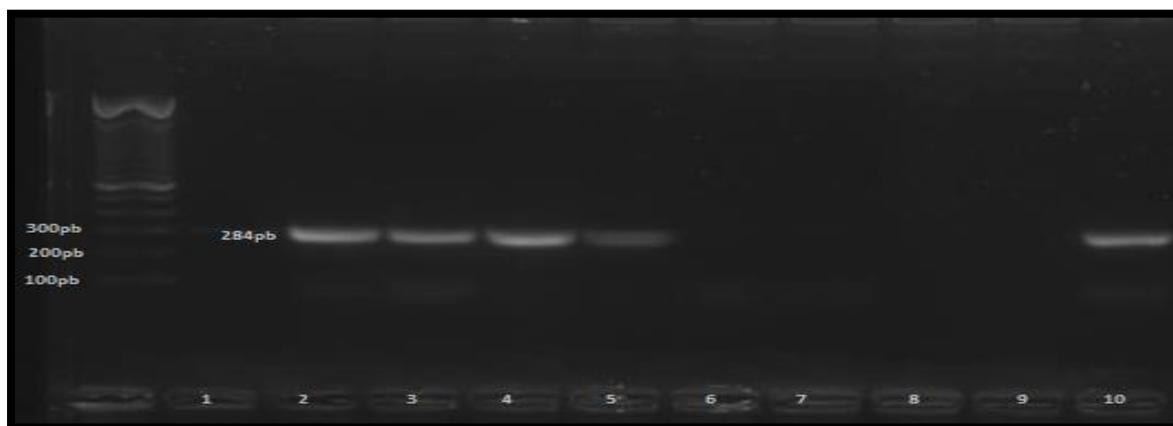


prevalencia a nivel predial de un 5% (2/40). Los resultados se muestran en la tabla N° 2.

**Tabla N°1.** Número total de muestras obtenidas, según especies en los dos períodos de muestreo en sistemas de producción de traspatio, vecinos al humedal “El Yali”.

Origen de la Muestra	N° de Muestras			
	Período 1	%	Período 2	%
Gallina Domestica	157	76,6	191	80,9
Ambientales	27	13,2	24	10,2
Cerdos	6	2,9	8	3,4
Pavo	6	2,9	9	3,8
Pato	7	3,4	2	0,8
Ganso	2	1	2	0,8
Total	205	100	236	100

**Tabla N° 2.** Resultados obtenidos en los dos períodos de muestreo para la



identificación de *Salmonella* spp en SPT.

	Total de muestras	Muestras positivas	Prevalencia animal	Prevalencia Predial
Período 1	205	0	0%	0%
Período 2	236	3	1,27%	5%

**Figura 2.** Detección del Gen *invA* (284pb) para la identificación de *Salmonella* spp.

Las bandas 2 al 5 positivas (284pb); banda 9 control negativo, banda 10 control positivo.

Objetivo N° 2

**Determinar la resistencia antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp aisladas de aves y/o cerdos presentes en SPT.**

En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (Método Kirby Bauer), todas las cepas de *Salmonella* spp aisladas fueron sensibles a los nueve antibióticos utilizados en el estudio, los cuales son de uso en terapia veterinaria y humana (Tabla N°3). La cepa control ATCC 25922 se encontró dentro de los estándares del CLSI.

**Tabla N°3.** Sensibilidad antimicrobiana de 3 cepas de *Salmonella* spp frente a diferentes antibióticos de uso en terapia veterinaria y humana.

Antibióticos	Resistente (valor de referencia)	Susceptible (valor de referencia)	Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3
Ampicilina (A) 10 µg	≤13	≥17	25 mm	27mm	28mm
Ácido Nalidíxico (W) 30 µg	≤13	≥19	24 mm	20mm	22mm
Cefotaxima (CTX) 30 µg	≤14	≥23	35mm	30mm	37mm
Ciprofloxacina (CIP) 5 µg	≤15	≥21	28mm	33mm	38mm
Cloramfenicol (C) 30 µg	≤12	≥18	22mm	25mm	28mm
Estreptomicina (ST) µg	≤6	≥10	17mm	13mm	16mm
Gentamicina (GE) 10 µg	≤12	≥15	25mm	27mm	23mm
Sulfatrimetoprim (SX) 25 µg	≤10	≥16	28mm	30mm	26mm
Tetraciclina (Te) 30 µg	≤14	≥19	22mm	20mm	21mm

Objetivo N°3

**Identificar y caracterizar las medidas de bioseguridad que realizan los SPT presentes en el humedal Nacional “El Yali”.**

En la estructura de los SPT, el 100% (46) de los productores criaba aves y un 32% de éstos, además criaba cerdos. El promedio de aves por SPT, fue de aproximadamente 37 aves, con un mínimo de ocho y un máximo de cien. En un 27% de los productores, además de las gallinas, se encontraron otras especies de aves, que en orden de importancia fueron: pavos, gansos y patos. El 91% de los encuestados afirmó ver un aumento en la cantidad de aves durante los meses de primavera/verano.

En la mayor parte de los traspatios (80%), la mujer era la encargada de cuidar y alimentar a los animales, que en general, eran criados para su propio consumo. El 30% (14/46) de los productores, afirmaron criar a las aves además del consumo familiar, para las ventas. De los cuales el 24% de ellos, se dedicaba a la venta exclusiva de huevos y el 6% restante, vendía huevos y aves vivas. Su principal mercado eran vecinos y familiares y de vez en cuando algunos turistas que visitaban la zona.

En cuanto al confinamiento de las aves, el 68% de los productores mantenía a las aves bajo confinamiento mixto, es decir, libres durante el día y encerradas en la noche. Un 23% las mantenía libres las 24 horas del día y sólo un 9% de los traspatios realizaba un confinamiento permanente, es decir, mantenían a las aves encerradas permanentemente evitando el contacto con otros animales. Con respecto a la alimentación, la mayoría de los productores manifestó, que se basaba principalmente en el forrajeo de las aves suplementado con cereales como trigo, maíz y harinilla de trigo. Sólo un 9% de ellos, que eran los que realizaban un confinamiento permanente a sus aves, las alimentaban solamente con cereal. Por otro lado, el agua para los animales, en casi todos los SPT era de origen no potable y solamente un 7% de los productores les daba agua potable. Además, muchos

productores afirmaron ver a sus aves bebiendo agua de distintas fuentes de origen, tales como: el humedal, canales, acequias, entre otros.

Sobre las mortalidades de las aves, se encontraron distintas prácticas adoptadas por los productores, las más predominantes fueron enterrarlas dentro del mismo predio (39%) y quemarlas (36%), pero hubo un 19% que afirmó botarlas a la basura y un 6% que las arrojaba lejos de su casa. En cuanto al reemplazo de las aves, la estrategia más usada por los productores (76%) era a través del reemplazo propio, es decir, iban seleccionando a los mejores pollos del mismo predio. Sin embargo, un 20% de los encuestados afirmó adquirir sus reemplazos a través de la compra de aves a sus vecinos, intermediarios y/o ferias, y el 4% restante dijo que se las habían regalado a través de proyectos del estado.

En general, casi todos los productores tenían escasos conocimientos acerca de las enfermedades que afectaban a sus aves. El 50% de ellos, dijo reconocer algunos signos clínicos cuando las aves estaban enfermas, sin embargo, ninguno de ellos sabía asociar estos signos con alguna enfermedad. No obstante, a pesar de tener nulos o escasos conocimientos, el 34,8% de ellos realizaba algún tipo de tratamiento casero, con plantas y hierbas medicinales. El 10,8% de los productores, aparte del uso de plantas medicinales, afirmó realizar un tratamiento farmacológico (analgésicos, antibióticos, vitaminas) de uso humano sin supervisión de un experto. Cabe señalar, que en el 54,3% de los sistemas productivos, no realizaban ningún manejo sanitario y al notar que sus aves se encontraban enfermas, simplemente las dejaban morir. Por otra parte, se encontraron solamente dos SPT que tenían vacunadas a sus aves (4%) contra: Enfermedad de Marek, Bronquitis infecciosa, Diftero viruela, *Salmonella* y la Enfermedad de Gumboro, y eran las aves que se las habían regalado a través de un proyecto del estado. Además, solamente el 10,8% de los traspatios

afirmó haber recibido asistencia veterinaria por lo menos una vez al año. En la tabla N°4 se resume la información del manejo sanitario realizado por los SPT de humedal “El Yali”.

**Tabla N° 4.** Manejos sanitarios realizados por los 46 SPT vecinos al humedal “El Yali”

Manejos Sanitarios	Categoría	SPT	%
Tratamiento	Farmacológico	5	10,9%
	Productos Naturales	16	34,8%
	No Realiza	25	54,3%
Vacunación	Sí	2	4%
	No	44	96%
Asistencia Veterinaria	Una vez al año	2	4,3%
	Más de una vez al año	3	6,5%
	No recibe	41	89,2%

Además de los escasos o nulos manejos sanitarios que realizaban los productores, se observaron deficientes o nulas medidas de bioseguridad. Por ejemplo, ningún SPT tenía cercos perimetrales funcionales que prohibieran el ingreso de animales de predios colindantes, y el 63% de ellos afirmó ver a animales vecinos tener un estrecho contacto con sus animales. Por otra parte, todos los productores, desconocían el concepto y la funcionalidad del pediluvio. La única medida que realizaban el 11% de los productores, era lavarse las manos después del manejo con las aves, ya que para ellos, la desinfección previa al manejo, era algo desconocido.

En cuanto a la prevención de ingreso de agentes patógenos, sólo el 9% de los predios afirmaron realizar algún tipo de cuarentena cuando compraban o les regalaban un animal, el resto de los productores juntaban inmediatamente a los animales. Sumado a esto, el humedal tenía diversos factores que favorecían aún más el ingreso de enfermedades. Por ejemplo, todos los SPT se encontraban a menos de 3 km del humedal, por lo que tenían un

mayor riesgo de tener contacto con aves silvestres y efectivamente, el 100% de los productores afirmaron observar aves silvestres dentro su predio y el 91% de ellos, certificó ver un estrecho contacto entre las aves silvestres y sus animales. Además, todos los productores eran vecinos de un plantel comercial de aves. En la tabla N° 5 se detallan las condiciones de bioseguridad de los SPT del humedal “El Yali”.

En relación a los dos predios que resultaron positivos a la bacteria. El primero, estaba localizado a menos de 1 km del humedal, por lo que era muy frecuente observar a las aves silvestres, tales como pato, garza, aguilucho, además de las passeriformes estar en estrecho contacto con las aves domésticas. En este predio, tenían aproximadamente 100 aves, que se caracterizaban por estar libres las 24 hrs del día, alimentándose del forrajeo diario que ellas encontraban y que a veces, era suplementado con maíz entregado por sus productores. Además, el agua que bebían no era potable debido a que provenía de un pozo. Al igual que la gran mayoría de los SPT, no realizaban ninguna medida de bioseguridad, ni manejo sanitario en sus animales, encontrándose dos muestras positivas a *Salmonella* spp. En cuanto al segundo predio, se encontraba localizado a 3km del humedal. Tenían 10 gallinas, 4 pavos y 2 cerdos. Las aves se encontraban bajo confinamiento mixto, y la alimentación consistía en el forrajeo diario suplementado con maíz. Sin embargo, a diferencia del SPT anterior, el agua que bebían las aves era potable. Acá, tampoco realizaban ninguna medida de bioseguridad, ni manejos sanitarios, las aves tenían un frecuente contacto con los demás animales, más aún, era muy habitual ver a las gallinas y a las aves silvestres dentro del corral de los cerdos. En este SPT se encontró una muestra positiva a la bacteria.

**Tabla N°5.** Condiciones de Bioseguridad de los 46 SPT del humedal “El Yali”.

<b>Medidas de Bioseguridad</b>	<b>Categoría</b>	<b>SPT</b>	<b>%</b>
Cercos Perimetrales	Sí	0	0%
	No	46	100%
Desinfección Previa	Sí	0	0%
	No	46	100%
Desinfección Posterior	Sí	5	11%
	No	41	89%
Pediluvios	Sí	0	0%
	No	46	100%
Cuarentena	Sí	4	9%
	No	42	91%
Contacto con animales vecinos	Sí	29	63%
	No	17	37%
Plantel comercial vecino	Sí	46	100%
	No	0	0%
Contacto con aves silvestres	Sí	42	91%
	No	4	9%
Humedal a menos de 3 km	Sí	46	100%
	No	0	0%

## DISCUSIÓN

La presente investigación fue realizada en los SPT vecinos al humedal “El Yali”, ya que al vivir en torno al humedal, ellos están más expuestos a ser infectados con diversos agentes zoonóticos que pudiesen ser transmitidos a través de las aves silvestres. Estudios como el de Horton *et al.*, (2012) y Conan *et al.*, (2013) plantean la hipótesis de que las infecciones por *Salmonella* en animales domésticos podrían ser causadas por infecciones transmitidas por las aves silvestres. Por tal motivo, y considerando que la mayoría de las aves migratorias inician su llegada desde mediados a fines de septiembre de cada año y permanecen en el país desde septiembre hasta abril (Tala, 2006), se decidió realizar un muestreo antes de la llegada de las aves migratorias, es decir, en agosto y principios de septiembre, y un segundo muestreo en marzo, fecha en que las aves silvestres están por marcharse hacia el hemisferio norte, siendo el período más crítico para la diseminación de diversos agentes patógenos. Al respecto, se encontraron dos SPT positivos a la bacteria sólo en el segundo período, es decir, cuando las aves silvestres estuvieron en frecuente contacto con los animales domésticos, lo que podría haber sido un factor de riesgo para la presentación de *Salmonella* spp. Sin embargo, pudiese haber sido que la infección inicial se produjo en las aves domésticas y posteriormente, se extendió a la vida silvestre, siendo los animales domésticos un factor de riesgo para la transmisión de *Salmonella* hacía las aves silvestres, y que posteriormente, ellas podrían actuar como posibles vectores de diseminación hacia las granjas aledañas (Hilbert *et al.*, 2012; Pao *et al.*, 2014; Tizard, 2004). En consecuencia, resulta una controversia el verdadero impacto de transmisión unidireccional o bidireccional de la bacteria, entre los animales mencionados (Hilbert *et al.*, 2012). Por consiguiente, sería recomendable desarrollar estudios posteriores en la flora

microbiana de las aves silvestres y las aves domésticas, con el fin de confirmar el verdadero impacto que tienen ambas en la diseminación de la bacteria.

En cuanto al primer objetivo, se encontró una prevalencia de un 5%, prevalencia muy similar a las encontradas en Bareilly, al norte de India 4,4% (Singh *et al.*, 2013) y en Irán 5,8% (Jafari y Jeideri, 2007). Cabe destacar, que éste es el segundo estudio realizado en los SPT de Chile, ya que el primero fue en la región Libertador General Bernardo O'Higgins, encontrando una prevalencia mucho más alta a la encontrada en la presente investigación (21,23%) (Gómez, 2014). Asimismo, en el cono sur de América, también se han encontrado prevalencias muchos más altas de *Salmonella* spp en SPT, por ejemplo, en la localidad de San Lorenzo, en Paraguay, se encontró un 40% (Álvarez *et al.*, 2012), o en Argentina, en el estado de Entre Ríos, se encontraron desde un 15,9% hasta un 28,6% de traspatios positivos (Xavier *et al.*, 2011). Sin embargo, debido a que existe una gran variabilidad entre las formas de producción de cada país y/o región, aparte de las distintas medidas de bioseguridad adoptadas por los productores, resulta muy complejo establecer comparaciones entre las estimaciones de prevalencia obtenidas en diversas investigaciones. Por otra parte, hay que considerar factores intrínsecos de cada estudio como: las estrategias de muestreo, el tamaño de la muestra, los protocolos utilizados, entre otros (Mejía, 2003), siendo aún más difícil establecer símiles. Además, la mayoría de los estudios son realizados en un área limitada de una localidad, por lo que no serían representativos de la prevalencia de *Salmonella* en los SPT a nivel nacional. Por ejemplo, la prevalencia obtenida en la Región Libertador Bernardo O'Higgins (21,23%) (Gómez, 2014), versus el presente estudio (5%). O en Bareilly (4,4%) (Singh *et al.*, 2013), versus el estado de Bengala Occidental de la India (15%) (Samanta *et al.*, 2014).

Con respecto al método de diagnóstico, se decidió realizar el método estándar (coprocultivo) por tres principales razones, primero porque es eficiente desde el punto de vista económico, ya que no requiere mayor equipamiento e instalaciones para su realización. En segundo lugar, porque tiene un gran valor en estudios epidemiológicos y, asimismo, es necesario para el desarrollo de antibiogramas (Pedraza *et al.*, 2014), el cual fue el segundo objetivo de esta investigación. Y tercero, porque es el recomendado por la Organización Mundial de Sanidad Animal y el Servicio Agrícola Ganadero (OIE, 2010; SAG, s.f). Hay que señalar que en la actualidad existen muchos métodos para aislar *Salmonella* que son de uso universal (OIE, 2010) los cuales están orientados a garantizar la seguridad alimentaria y a optimizar los procesos de vigilancia epidemiológica reduciendo los tiempos de detección del patógeno y aumentando la especificidad y sensibilidad de la técnica. Entre ellos, se encuentran los métodos inmunológicos y ensayos basados en el ácido nucleico (Pedraza *et al.*, 2014). No obstante, los resultados obtenidos siempre son considerados como presuntos positivos los cuales deben ser confirmados obligatoriamente mediante el cultivo tradicional (OIE, 2010, Pedraza *et al.*, 2014).

Sobre la prueba de susceptibilidad a antibióticos, se observó que todas las cepas fueron sensibles a los nueve antimicrobianos testeados, resultados que coinciden con la investigación de Gómez (2014), la cual probó el mismo grupo de antibióticos utilizados en el presente estudio. No así estudios realizados en países como Malasia, Tailandia y Vietnam, en cepas de *Salmonella* spp aisladas de cerdos y aves de corral, donde se registraron resistencia a ampicilina y tetraciclina en tasas de 22-49 y 41-92% respectivamente, evidenciando una clara problemática de resistencia en el Sudeste de Asia (Hao *et al.*, 2012). Asimismo, en Chile, se han encontrado resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp aisladas en medicina humana, animales de granja e incluso aves

acuáticas migratorias (San Martín *et al.*, 2005; Fresno, 2013). Por lo que, los resultados conseguidos en el presente estudio y en el de Gómez (2014), podrían sugerir que quizás se encontraron nuevas cepas de *Salmonella* spp que aún no han adquirido resistencia, o que todas las salmonelas aisladas en las dos investigaciones podrían tener su origen en ambientes donde no se utilicen a menudo antimicrobianos. De igual manera, si es que se llegará a desarrollar la enfermedad en los SPT del humedal “El Yali”, estos antibióticos podrían ser la droga de elección para el tratamiento contra la bacteria. No obstante, es importante mencionar que esta investigación ofrece una visión transversal de la susceptibilidad antimicrobiana, por lo que sería recomendable realizar más estudios a fin de ir evaluando la evolución de la resistencia (Junod *et al.*, 2013), ya que si bien es cierto, que este fenómeno varía de una zona geográfica a otra y también a lo largo del tiempo, lo seguro es que tarde o temprano todo antimicrobiano generará resistencia (Infosan, 2005). Por otra parte, debido a que las cepas encontradas no fueron tipificadas, principalmente por un tema de costo, queda la duda sobre el origen de infección que pudieron tener las aves y si es que son riesgosas para los animales y/o para los humanos (Acedo *et al.*, 2009).

En relación con el tercer objetivo, se encontró un promedio de 37 aves por sistema productivo, cantidad muy similar a la encontrada en SPT de Vietnam e India (Hong-Hanh *et al.*, 2007; Kornel, 2008). Sin embargo, existía una gran variabilidad en cuanto al número de aves por hogar (mín.=8; máx.= 100) la cual podría explicarse por el objetivo productivo del traspatio, específicamente el comercio, ya que existía un 30% de productores que además de criar aves para el autoconsumo mantenían aves para las ventas.

En cuanto a las medidas de bioseguridad, a diferencia de lo que ocurre en la industria avícola, en donde las medidas de bioseguridad son de altos estándares, en los SPT estas medidas son difíciles de adoptar (Conan *et al.*, 2013). Por ejemplo, es importante que

el productor mantenga a las aves aisladas, con el fin de poder prevenir el ingreso de agentes patógenos y enfermedades (Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2013, SAG, 2006b). En el caso de los productores del humedal, sólo un 9% de ellos realizaba esta medida, la gran mayoría mantenía a sus aves libres durante todo el día, favoreciendo el contacto directo con aves silvestres, animales vecinos y visitantes, de manera similar a lo que ocurre en SPT de India y Vietnam (Hong-Hanh *et al.*, 2007; Kornel, 2008). Más aún, ningún productor tenía cercos perimetrales funcionales que prohibieran el paso de animales vecinos a su predio, por lo que las aves deambulan libremente por los predios colindantes.

Sobre las medidas necesarias para la limpieza y desinfección de corrales, es fundamental que los productores realicen diariamente una limpieza de corrales, la cual incluye recoger el guano, cambiar la cama de aves, limpiar y desinfectar los bebederos y comederos, además de utilizar desinfectantes autorizados y registrados por el organismo estatal sanitario correspondiente (SAG, 2006b). Al respecto, sólo un 11% de los productores realizaba una desinfección posterior al manejo de las aves, ya que la gran mayoría de ellos desconocían el concepto de lavarse las manos antes de tener contacto con sus aves, además de no tener noción del uso y significado del pediluvio. Situación muy diferente a la que ocurre en SPT de Norteamérica en donde los productores realizan una profunda limpieza, además de utilizar diversos desinfectantes para proteger a sus aves (Conan *et al.*, 2012).

Un punto interesante de mencionar sobre las medidas de bioseguridad, es que se recomienda la separación de aves por edad y por especie, lo que facilitaría la estrategia de todo dentro-todo fuera, y así la limpieza sanitaria podría llevarse a cabo entre la completa salida de las aves y la renovación de los rebaños (SAG, 2006b; Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2013). Sin embargo, la FAO (2008) reconoce que la separación de aves por edad en países

desarrollados no es factible. Primero, porque los productores prefieren mantener aves de distintas edades que les garanticen la producción de carne durante todo el año. Y segundo, porque al utilizar sus propios reemplazos para renovar a sus animales la producción puede durar todo el año. Del mismo modo, los SPT del humedal mantenían a sus aves mezcladas, es decir, las jóvenes, con las viejas, de distintas especies y/o de distinto origen.

En relación con el manejo de la mortalidad de las aves, es necesario que las aves sean enterradas o incineradas con el fin de evitar la diseminación de agentes patógenos zoonóticos (SAG, 2006b; Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2012; Conan *et al.*, 2013, Iqbal, 2009). Medida realizada por el 75% de los productores del humedal, a diferencia de lo que ocurre en otros países en donde los productores generalmente venden o consumen las aves muertas (Conan *et al.*, 2012, Iqbal, 2009) favoreciendo la posibilidad de transmisión de enfermedades hacia las personas. No obstante, hubo un 19% de SPT que afirmaron botar a las aves a la basura y un 6% lejos de su casa, representando un grave problema de diseminación de enfermedades (Reed *et al.*, 2003), más aún, si consideramos que todos los SPT se encontraban a un radio de 3 km del humedal.

Acerca de los reemplazos de las aves, las aves nuevas o las que han estado en contacto con otras aves, deben ingresar a un corral separado de las aves del predio y lejos de la crianza, y mantenerlas en observación por un período de al menos diez días, para verificar que se encuentren sanas (SAG, 2006b; Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2013). Al respecto, la mayoría de los SPT obtenían a las aves del mismo sistema productivo, sin embargo, hubo algunos productores que afirmaron ingresar aves compradas o regaladas entre los mismos vecinos o por el sector, de los cuales solo un 9% de ellos declaró realizar algún tipo de cuarentena, los demás propietarios juntaban a las aves inmediatamente, traduciéndose en un factor de riesgo para el ingreso de enfermedades al plantel.

En cuanto a las enfermedades de las aves, es importante que los propietarios estén atentos a los signos de enfermedades infecciosas de las aves, ya que la detección precoz ayudaría a evitar la propagación de cualquier enfermedad (Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2013). En general, la mayoría de los productores tenía escasos conocimientos acerca de las enfermedades que afectaban a sus aves y el 54,3 % de ellos dijo que al reconocer algún signo clínico en sus aves simplemente las dejaba morir. Sumado a esto, casi el 90% de los productores afirmó no contar con asesoría veterinaria, por lo que fue común encontrar que se aplicaran tratamientos farmacológicos de otra especie o de uso humano a aves enfermas sin supervisión de un Médico Veterinario, lo que puede ser un riesgo de salud pública, debido a la presencia de residuos de fármacos en los productos obtenidos de las aves (Hamilton-West, 2010; Iqbal, 2009; Clifford, 2014; Conan *et al.*, 2012).

Con respecto al agua que bebían los animales, hay evidencias de diseminación de enfermedades a través de fuentes de aguas no tratadas, por lo que la recomendación sería el suministro de agua potable en recipientes limpios (SAG, 2006b). Sin embargo, esta medida es muy difícil de adoptar para productores en países en desarrollo ya que frecuentemente utilizan el agua de pozo o ríos para dar de beber a sus aves (Conan *et al.*, 2012). Asimismo, la mayoría de los productores del humedal afirmaron ver a sus aves bebiendo agua de distintas fuentes de origen no potable, tal como el humedal, canales, acequia, al mismo tiempo que les suministraban de beber agua de pozo, siendo un factor de riesgo para la introducción de *Salmonella*.

Como se pudo observar, los SPT del humedal nacional “El Yali” tienen deficientes o nulas medidas de bioseguridad, lo que favorecería la introducción y mantención de agentes zoonóticos (Reed *et al.*, 2003), representando un importante problema de salud pública. Sin embargo, es difícil que los productores apliquen estas medidas sin tener

capacitaciones y conocimientos adecuados. Así, por ejemplo, sólo dos SPT habían recibido gallinas vacunadas por parte del Estado, pero fuera de eso, no habían tenido mayor capacitación respecto al tema. Por lo que se podría pensar que son medidas insuficientes y corto placistas que no solucionan el trasfondo del problema. En el estudio de Conan *et al* (2013) plantean que los productores tienden a cambiar sus prácticas sólo después de experimentar efectos adversos en sus rebaños, por ejemplo, altas mortalidades. Y que una posible solución serían las capacitaciones en cascadas, es decir, capacitar a pocos individuos del pueblo quienes a su vez, vayan capacitando a un grupo mayor de personas, lo cual sería un sistema ventajoso debido a su bajo costo y fácil aplicación. Por otra parte, hay pocos estudios que describen o analizan el verdadero impacto de las medidas de bioseguridad en los SPT y a pesar del hecho que el 80% de la población mundial se dedica a la cría de aves de corral, la mayoría de las recomendaciones en cuanto a las medidas de bioseguridad se basan en pruebas indirectas en cuanto a su eficacia y viabilidad técnica, ya que muchas medidas son costosas y no pueden ser adoptadas en la economía del hogar (Conan *et al.*, 2012). Sin embargo, pese a los escasos estudios referente al tema, sería recomendable como medida a largo plazo, una alianza entre la agricultura y la educación, con el objetivo de capacitar a los establecimientos educacionales, especialmente de zonas rurales, asegurando a una futura población que tenga los conocimientos necesarios para poder cambiar las prácticas que se realizan actualmente.

Finalmente, a pesar de las deficientes medidas de bioseguridad que realizan los productores del humedal “El Yali”, en el presente análisis se evidenció claramente la presencia de la bacteria, sin embargo, es posible que esta estimación no haya sido exacta. Por este motivo, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta varias consideraciones. En primer lugar, es importante mencionar que la presencia de esta bacteria

es muy variable y depende de la zona donde se críen las aves (Romero, s.f) por lo que el bajo número de muestras positivas encontradas, puede ser, debido a que ciertamente, hay una escasa cantidad de *Salmonella* spp circulando en el humedal. En segundo lugar, hay que tener presente el hecho de que los individuos pueden ser portadores asintomáticos de la bacteria, excretándola en pequeña cantidad y en forma intermitente (Orellana, 2010; Pedraza, 2014). Por lo tanto, es posible que los animales considerados como falsos negativos sean portadores de la bacteria pero al momento del muestreo no se encontraban eliminándola. Por lo que sería recomendable, desde el punto de vista del diagnóstico, realizar muestras seriadas en función de tiempo a los mismos individuos, con el fin de aumentar la sensibilidad y así obtener un diagnóstico certero (Orellana, 2010). En tercer lugar, el método de muestreo también pudo haber influido en los resultados obtenidos, en otras palabras, quizás el número de muestras tomadas al azar no eran realmente representativas de los SPT analizados, repercutiendo en una baja prevalencia. En el caso de los cerdos, en el cual las muestras fueron negativas, podría explicarse debido a que efectivamente no se encontraba la bacteria presente. Sin embargo, parece poco probable ya que las aves y los cerdos son sensibles a la presencia de *Salmonella* spp y pueden estar infectados sin manifestar la enfermedad clínica (OIE, 2010). Ahora bien, el número de muestras obtenidas de cerdos correspondía a un 3% del total de muestras, ya que en general, la mayoría de los SPT del humedal no tenían cerdos, por lo que la probabilidad de encontrar muestras positivas en general era baja. En último lugar, la baja proporción de muestras positivas podría explicarse debido al protocolo utilizado para el aislamiento de la bacteria, el cual como se mencionó anteriormente, es recomendado por la OIE y por el SAG. Este método, suele ser de baja sensibilidad, puesto que el porcentaje de recuperación en los medios de cultivos es de un 4 a 10% (Pedraza *et al.*, 2014), porcentaje que coincide

con lo encontrado en este estudio (5%). Esta baja sensibilidad es debido a que un portador asintomático, elimina la bacteria en una pequeña cantidad y en forma intermitente (Orellana, 2010; Pedraza, 2014), sumado a la competencia presente con otros microorganismos y a los cambios físicos químicos del medio de cultivo y/o del ambiente. Sumado a esto, el protocolo utilizado se basa en la detección de salmonelas móviles, por lo que una salmonela inmóvil, por ejemplo, *S. Gallinarum*, tendrá un alto crecimiento en el agar MSR/V pero sin difusión (Mejía, 2003), por lo que probablemente esas placas pudiesen haber sido descartadas.

En cuanto a la técnica de PCR para el gen *invA*, a diferencia del cultivo bacteriológico, tiene una sensibilidad de un 99,6% y una especificidad de un 100% (Malorny *et al.*, 2003), es decir, es un método de detección altamente confiable. Más aún, estudios como el de Soria (2012) y Sánchez (2007), han demostrado que combinar estas dos técnicas, sería el método más efectivo para detectar a la bacteria, principalmente porque el PCR sólo detecta material genético (DNA), a diferencia del aislamiento que permite obtener microorganismos vivos, si es que se encuentran presentes en la muestra. Por lo que la sensibilidad que se obtiene al utilizar las dos pruebas en conjunto, suele ser mayor que la sensibilidad encontrada en cada una de ellas por separado (Sánchez, 2007; Soria, 2012). Sin embargo, en este trabajo, no fue posible utilizar como técnica de diagnóstico los dos métodos en todas las muestras a analizar debido a su alto costo. Por lo que cabría preguntarse, si en el presente estudio, se hubiesen utilizado las dos técnicas en conjunto ¿Se hubiera encontrado una prevalencia diferente de *Salmonella* spp a la encontrada usando solo el método tradicional de coprocultivo?

## CONCLUSIÓN

Sólo se encontraron 2 SPT positivos a *Salmonella* spp. en el segundo período de muestreo, el cual fue el tiempo en que las aves silvestres tuvieron un frecuente contacto con los animales domésticos. No obstante, no es posible determinar el verdadero impacto que tienen las aves silvestres en la diseminación de la bacteria hacía los animales domésticos y viceversa, por lo que se sugiere desarrollar estudios posteriores que incluyan a las aves silvestres dentro del marco de muestreo.

Se encontró un 5% de prevalencia de *Salmonella* a nivel predial y un 1,27% de a nivel animal. Sin embargo, es posible que la estimación no haya sido exacta por lo que se sugiere realizar nuevos estudios utilizando en conjunto la técnica de PCR y cultivo bacteriológico, con el fin de obtener una mejor sensibilidad.

Las cepas de *Salmonella* spp encontradas en el humedal “El Yali” no presentaron resistencia antimicrobiana a los nueve antibióticos testeados.

Los SPT del humedal nacional “El Yali” presentaron deficientes o nulas medidas de bioseguridad, lo que favorecería la introducción y mantención de agentes zoonóticos representando un importante problema de salud pública.

La presencia de *Salmonella* spp y el alto riesgo que existe que la bacteria llegue al hombre a través de la cadena alimentaria, sugieren fortalecer programas de vigilancia epidemiológica y capacitación constante a los productores, con el fin de mejorar las condiciones de bioseguridad y en consecuencia evitar la presencia de agentes patógenos zoonóticos.



## BIBLIOGRAFÍA

- **Acha, P. N y Szyfres, B. 2001.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre ya los animales. Volumen I: Bacteriosis y micosis. *Revista Española de Salud Pública.* 75(3), 263-264.
- **Acedo-Félix, E., Núñez-Hernández, Y., Pérez-Morales, R., Iñiguez-Palomares, C y Castellón-Campaña, L. 2009.** Caracterización polifásica de *Salmonella* spp: Aislada de campos agrícolas de melón (*cucumis melo*) y cilantro (*coriandrum sativum*). *Interciencia.* 34(6), 419-423.
- **Álvarez, F.L., Copes, J., Álvarez, M., Núñez, L., Suzuki, K., Goretti, M., Zarate, N., Castro, L., Weiler, N., Faccioli, M.L y Leotta, G. 2012.** Frecuencia de *Salmonella* Entérica en aves de traspatio de la localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay. *Compend. cienc. vet.* 2(1), 9-11.
- **Andrés, S., Vico, J. P., Garrido, V., Grilló, M. J., Samper, S., Gavín, P., Herrera-León, S., Mainar-Jaime y R. C. 2013.** Epidemiology of Subclinical Salmonellosis in Wild Birds from an Area of High Prevalence of Pig Salmonellosis: Phenotypic and Genetic Profiles of *Salmonella* Isolates. *Zoonoses and Public Health.* 60(5), 355-365.
- **ANÓN. 2013.** El sector avícola de Chile: Consumo y producción. El Sitio Avícola. 30 mayo. [En línea]. Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2381/el-sector-avicola-de-chile-consumo-y-produccion/> [consulta: 20 julio 2014]
- **APA-ASOHUEVO. 2006.** "Caracterización de la industria avícola nacional". Boletín Veterinario Oficial N°6. Servicio Agrícola Ganadero (SAG).
- **Berlanga, C., Ruiz-Luna, A. y Lanza, G. 2008.** Esquema de clasificación de los humedales de México. *Investigaciones geográficas.* (66), 25-46.
- **Blanco, D. 1999.** Los humedales como hábitat de aves acuáticas. Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica. Oficina Regional de Ciencia y Tecnología de la UNESCO para América Latina y el Caribe. ORCYT. Montevideo, Uruguay, 219-228.
- **Caffer, M. I y Terragno, R. 2001.** Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Departamento de Bacteriología. Buenos Aires, Argentina. 37p
- **Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2011.** National Enteric Disease Surveillance: *Salmonella* Annual Report. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services. 18p.

- **Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2012.** *Salmonella*. [en línea]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/salmonella/general/> [consulta: 10 enero 2015].
- **Chacón, L., Barrantes, K., García, C y Achí, R. 2010.** Estandarización de una PCR para la detección del gen invA de *Salmonella* spp. en lechuga. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2010*. 30(1), 18-23.
- **Chávez-de la Peña, M. E., Higuera-Iglesias, A. L., Huertas-Jiménez, M. A., Báez-Martínez, R., Morales-de León, J., Arteaga-Cabello, F., Rangel-Frausto, S y Ponce de León-Rosales, S. 2001.** Brote por *Salmonella* Enteritidis en trabajadores de un hospital. *Salud Pública de México*. 43(3), 211-216.
- **Clifford, J. 2014.** Biosecurity guide for poultry and bird Owners. United States Department of Agriculture (USDA) - Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). Washington, DC.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007.** Performance standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. 27(1).
- **Conan, A., Goutard, F. L., Sorn, S y Vong, S. 2012.** Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries: a systematic review. *BMC Veterinary Research*. 8(1), 240.
- **Conan, A., Ponsich, A., Goutard, F. L., Khiev, R., Tarantola, A., Sorn, S y Vong, S. 2013.** A community-based education trial to improve backyard poultry biosecurity in rural Cambodia. *Acta tropica*. 125(3), 294-302.
- **Echávarri, V. 2011.** Las Carnes de Aves. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. Gobierno de Chile-Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile. 14p.
- **Echavarri, V y De La Fuente, T. 2012a.** Las Carnes de Aves. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. Gobierno de Chile-Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile. 8p.
- **Echávarri, V y De La fuente, T. 2012b.** Mercado Agropecuario: Situación del sector productor de carne porcina. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. Gobierno de Chile-Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile.16p.
- **European Food Safety Authority (EFSA). 2014.** *Salmonella*. [En línea]. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella> [Consulta: 10 enero 2015].
- **Fischer, J y Gerhold, R. 2002.** Wildlife as a Risk Factor in Animal Health and Zoonoses. In: Conferencia OIE. Georgia, University of Georgia, Southeastern Cooperative Wildlife Disease Study, College of Veterinary Medicine. pp. 273-280.
- **Fresno, M., Barrera, V., Gornall, V., Lillo, P., Paredes, N., Abalos, P y Retamal, P. 2013.** Identification of diverse *Salmonella* Serotypes, Virulotypes, and Antimicrobial

Resistance Phenotypes in Waterfowl From Chile. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 13(12), 884–887.

- **Gallardo, H y Meza, J. 2012.** Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). El Yali. Corporación Nacional Forestal, Departamento de Áreas Silvestres Protegidas. 23p.
- **Giacomozzi, J. 2014.** Situación actual de la industria del huevo. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. Gobierno de Chile-Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile. 8p.
- **Gómez, E. 2014.** Identificación de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a antimicrobianos, y factores de riesgo para su circulación, en aves y cerdos mantenidos en sistemas productivos de traspatios de la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, Chile. Tesis Magister en Ciencias Animales y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 88p.
- **Hamilton-West, C. 2010.** Determinación de diferencias en riesgo de recepción y diseminación de influenza aviar altamente patógena en zonas de prioritarias para el ingreso de esta enfermedad a Chile. Tesis Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Campus sur. 100 p.
- **Hamilton-West, C., Rojas, H., Pinto, J., Orozco, J., Hervé-Claude, P y Urcelay, S. 2012.** Characterization of Backyard Poultry Production Systems and Disease risk in the Central Zone of Chile. *Research in Veterinary Science*. 93(1), 121–124.
- **Hao, T., Hoang, K., Smooker, P y Coloe, P. 2012.** The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. *International Journal of Food Microbiology*. 154(4), 90-106.
- **Hilbert, F., Smulders, F. J. M., Chopra-Dewasthaly, R y Paulsen, P. 2012.** *Salmonella* in the wildlife-human interface. *Food Research International*. 45(2), 603-608.
- **Hong-Hanh, P. T., Burgos, S y Roland-Holst, D. 2007.** The Poultry Sector in Viet Nam: Prospects for Smallholder Producers in the Aftermath of the HPAI Crisis. Pro-Poor Livestock Policy Initiative (PPLPI) Research Report. Ministry of Agriculture and Rural Development. 14p.
- **Horton, R. A., Wu, G., Speed, K., Kidd, S., Davies, R., Coldham, N. G y Duff, J. P. 2013.** Wild birds carry similar *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains to those found in domestic animals and livestock. *Research in Veterinary Science*. 95(1), 45-48.
- **Instituto de Salud Pública (ISP). 2009.** Estudio de prevalencia de *Salmonella* en huevos del bioterio del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) para producción interna. 4p.

- **Instituto de Salud Pública (ISP). 2012.** Vigilancia de *Salmonella* spp. 2012. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. 2(13), 1-15.
- **Instituto de Salud Pública (ISP). 2014.** Vigilancia de *Salmonella* spp. Chile, 2009-2014. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. 2(10), 1-18.
- **International Network of Food Safety Authorities (INFOSAN). 2005.** *Enterobacter Sakazakii* en las formulas infantiles en polvo. Nota informativa No.1/2005.
- **Iqbal, M. 2009.** Controlling avian influenza infections: The challenge of the backyard poultry. *Journal of Molecular and Genetic Medicine: An International Journal of Biomedical Research.* 3(1), 119–120.
- **Jafari, R. A., Ghorbanpour, M y Jaideri, A. 2007.** An investigation into *Salmonella* infection status in backyard chickens in Iran. *Int J Poult Sci.* 6(3), 227-229.
- **Jahn, A. E., Levey, D. J., Johnson, J. E., Mamani, A. M y Davis, S. E. 2006.** Towards a mechanistic interpretation of bird migration in South America. *Hornero.* 21(2), 99-108.
- **Junod, T, López-Martin, J y Gädicke, P. 2013.** Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. *Revista médica de Chile.* 141(3), 298-304.
- **Kornel, D. 2008.** Poultry sector country review: India. FAO Animal Production and health Division. Emergency Centre for Transboundary Animal Diseases Socio Economics, Production and Biodiversity Unit.
- **Maldonado, David. 2014.** Programa de Control Microbiológico Oficial SAG. Taller Poultry Tool-FAO/ACHIPIA. Santiago, julio 2014. 17p.
- **Malorny, B., Hoorfar, J., Bunge, C y Helmuth, R. 2003.** Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. *Applied and environmental microbiology.* 69(1), 290-296.
- **Meza, Carolina. 2013.** Identificación de factores que permiten la circulación de patógenos zoonóticos entre aves silvestres y animales domésticos, en las cercanías de la Reserva Nacional “El Yali”. Tesis para optar al título profesional de Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 53p.
- **Mejía, W. 2003.** Epidemiología de la salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección. Tesis doctoral para optar el grado de doctor. Barcelona, España. U. Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria, Departamento de Sanidad y Anatomía animal. 98p.
- **Ministerio de Salud (MINSAL). 2011.** Informe *Salmonella* Enteritidis 7 de noviembre 2011. Departamento de Epidemiología. 9p.

- **Orellana, M. 2010.** Detección de *Salmonella* spp. mediante muestreo fecal seriado en dos centros ecuestres de la Región Metropolitana, Chile. Tesis para optar al título profesional de Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 67p.
- **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2010.** Salmonellosis. **In:** OIE Terrestrial Manual. Capítulo 2.9.9. 19p.
- **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2012.** Fowl Typhoid and Pullorum Disease. **In:** OIE Terrestrial Manual. Capítulo 2.3.11.14p
- **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2015.** Prevención, detección y control de las infecciones de aves de corral por *Salmonella*. **In:** Código Sanitario para los Animales Terrestres. Capítulo 6.5. 6p.
- **Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2008.** Biosecurity for highly pathogenic avian influenza: issues and options. Animal Production and Health. Roma, Italia. 89p.
- **Palmgren, H., Aspán, A., Broman, T., Bengtsson, K., Blomquist, L., Bergström, Sellin, M., Wollin, R y Olsen, B. 2006.** *Salmonella* in Black-headed gulls (*Larus ridibundus*); prevalence, genotypes and influence on *Salmonella* epidemiology. *Epidemiology and infection*. 134(03), 635-644.
- **Pao, S., Hagens, B. E., Kim, C., Wildeus, S., Ettinger, M. R., Wilson, M. D y Luchansky, J. B. 2014.** Prevalence and molecular analyses of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. in co-grazing small ruminants and wild-living birds. *Livestock Science*.160, 163-171.
- **Parra, M., Durango, J y Máttar, S. 2002.** Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Revista MVZ Córdoba*. 7(2), 187-200.
- **Pedraza, J. G., Sanandres, N. P., Varela, Z. S., Aguirre, E. H y Camacho, J. V. 2014.** Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*. 30(1), 73-94.
- **Reed, K., Meece, J., Henkel, J y Shukla, S. 2003.** Birds, Migration and Emerging Zoonoses: West Nile Virus, Lyme disease, Influenza A and Enteropathogens. *Clinical Medicine and Research*. 1(1), 5-12.
- **Retamal, P. 2011.** Instructivo medidas de bioseguridad. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. 4 p. (LEI-I-002).
- **Retamal, P. 2011a.** Aislamiento de *Salmonella* desde heces. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. 6p. (LEI-I-004).

- **Retamal, P. 2011b.** Instructivo: Reacción de PCR. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. 3p. (LEI-I-004).
- **Retamal, P. 2011c.** Electroforesis en gel de agarosa. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. 3 p. (LEI-I-005).
- **Rojas, H. y Moreira, R. 2009.** Influenza Aviar en Chile 2002: una Sinopsis. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) – Banco Mundial (BM). 32p.
- **Romero, L. S.F.** Producción Avícola a Pequeña Escala. Secretaria De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. 8p.
- **Ruiz, S. 2013.** Caracterización de sistemas productivos de traspatio que mantienen aves y cerdos, en la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins y riesgo asociado a la mantención y diseminación de patógenos zoonóticos. Tesis de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuaria, Departamento de Medicina Preventiva Animal. 54 p.
- **Sánchez, P. 2007.** Uso de reacción de polimerasa en cadena en el diagnóstico de *Salmonella* Enteritidis en tejidos y contenido intestinal de pollos experimentalmente infectados. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuaria, Departamento de Medicina Preventiva Animal. 69p.
- **Samanta, I., Joardar, S. N., Das, P. K., Sar, T. K., Bandyopadhyay, S., Dutta, T. K y Sarkar, U. 2014.** Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serotypes isolated from backyard poultry flocks in West Bengal, India. *The Journal of Applied Poultry Research*, 23(3), 536-545.
- **San Martin, B., Lapierre, L., Toro, C., Bravo, V., Cornejo, J., Hormazabal, J. C y Borie, C. 2005.** Isolation and molecular characterization of quinolone resistant *Salmonella* spp. from poultry farms. *Veterinary Microbiology*. 110 (3-4), 239-44.
- **Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2006a.** Bioseguridad personal durante el manejo de aves. Programa de Vigilancia Epidemiológica. **In:** Instructivo Técnico N°1 VIGEP/IT3.
- **Servicio Agrícola Ganadero (SAG). 2006b.** Bioseguridad en la avicultura familiar campesina. Programa de vigilancia epidemiológica. **In:** Manual de procedimiento n° 7 BIOSAV/MP 7.
- **Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). s.f.** Instructivo Técnico Para la Detección de *Salmonella* Spp. Móviles según Metodología Tradicional OIE. [En línea]. Disponible en: <http://www.sag.cl/sites/default/files/it-lab-24-v01.pdf> [Consulta: 19 agosto 2014].

- **Shirota, K., Umali, D., Suzuki, T y Katoh, H. 2012.** Epizootiologic Role of Feeds in the Epidemiology of *Salmonella* Senftenberg Contamination in Commercial Layer Farms in Eastern Japan. *Avian Diseases*. 56(3), 516-520.
- **Silva, j., Aravena, C., Araya, j., Colque-Navarro, P., Kúhn, I. y Molby, R. 2003.** Fenotipos bioquímicos y fagotipos de cepas de *Salmonella* Enteritidis aislada en Antofagasta, 1997-2000. *Revista médica de Chile*. 131(8), 836-854.
- **Singh, R., Yadav, A., Tripathi, V y Singh, R.P. 2013.** Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* present in poultry and poultry environment in north India. *Food Control*. 33(2), 545-548.
- **Soria, M. 2012.** Presencia de *Salmonella* y características físicas de huevos destinados a consumo humano. Tesis de Magister en Ciencias Veterinarias. Santa Fe, Argentina. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de ciencias veterinarias. 195 p.
- **Srianta, I., Kusumawati, N., Nugerahani, I., Juniawati, A.H y Rinihapsari, E. 2009.** The presence of *Salmonella* in food: a challenge to detect it and to improve food safety continuously in a global scale. *International Journal of Food Safety, Nutrition, Public Health and Technology*. 1(1), 6-10.
- **National Veterinary Institute (SVA). 2011.** *Salmonella* in Poultry. [En línea]. Disponible en: <http://www.sva.se/en/About-SVA/Salmonella-website/Salmonella-in-animals/Salmonella-in-poultry> [consulta: 19 junio 2014].
- **Tala, S. 2006.** Qué hacen aquí esas gaviotas... qué hacen aquí, tan lejos de su lugar natal. Boletín Veterinario Oficial N°5 (BVO). Servicio Agrícola Ganadero, Ministerio de Agricultura.
- **Tizard, I. 2004.** Salmonellosis in wild birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. 12 (2), 50-66.
- **Tsiodras, S., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Bauchinger, U y Falagas, M.E. 2008.** Human infections associated with wild birds. *Journal of infection*. 56(2), 83-98.
- **Uribe, C y Suárez, M. 2006.** Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia Médica*. 37(2), 151-158.
- **Vidal-Abarca, M. R., Suárez, M. L., Figueroa, R., Enríquez, M., García, V., Domínguez, C. y Arce, M. I. 2011.** Caracterización hidroquímica del complejo de humedales El Yali, Chile Central. *Limnetica*. 30(1), 43-58.
- **Xavier, J., Pascal, D., Crespo, E., Schell, H. L., Trinidad, J. A y Bueno, D. J. 2011.** Seroprevalence of *Salmonella* and *Mycoplasma* infection in backyard chickens in the state of Entre Ríos in Argentina. *Poultry science*. 90(4), 746-751.

## ANEXOS

### Anexo N° 1

#### Límites geográficos del “Complejo de Humedales del Litoral Central”



Google Earth. 2013. “Humedal Nacional “El Yali” 33°46'39.94"S, 71°42'36.55"O, elevación 23m.

### Anexo N° 2

#### Consentimiento Informado

**Proyecto:** Identificación de evidencias de circulación *Salmonella* en sistemas productivos de traspatio.

Nombre del investigador principal: Christopher Hamilton-West

Institución: Universidad de Chile. Teléfonos:+56 2 9785578

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación “Identificación de evidencias de circulación de *Salmonella* en sistemas productivos de traspatio”, debido a que en su granja existen aves y /o cerdos.

**Objetivos:** Esta investigación tiene por objetivos determinar la presencia de *Salmonella* circulando en poblaciones de aves y cerdos de traspatio, junto a la identificación de factores de riesgo para su respuesta.

**Procedimientos:** Si Ud. acepta participar, deberá responder un cuestionario, con una duración aproximada de 20 minutos, y se tomarán muestras de algunos de sus animales (aves/cerdos).

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento, su participación en este estudio le traerá los siguientes beneficios: Se le entregarán los resultados de las pruebas diagnósticas realizadas.

**Compensación:** Ud. No recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservado en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima. Sin embargo, en el caso de que algún animal sea diagnosticado como positivo *Salmonella*, se deberá comunicar al SAG quién tomará muestras adicionales.

**Voluntariedad:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento, comunicándolo al investigador.

**Derechos del participante:** Si Ud. Requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede llamar a: Christopher Hamilton-West, teléfono +56 2 9785578

Autoridad de la Institución: Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, +56 2 9782000

**Conclusión:** Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto “Identificación de evidencias de circulación de *Salmonella* en sistemas productivos de traspatio”.

Nombre del productor

Firma

Fecha

Anexo N° 3

**Reactivos  
de la  
PCR**

Reactivo	Conc	Volúmen
Buffer Taq 10 x	1x	2
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	1.6 mM	0,6
dNTPs 10 Mm	0.2 mM	0,4
Partidor 1 10x	0.5 uM	2
Partidor 2 10x	0.5 uM	2
Taq pol	0.6-0.9 U	0,18
DNA Templado		1
H <sub>2</sub> O calidad PCR		11,82
<b>Volumen final</b>		<b>20</b>

**para la mezcla  
reacción de  
convencional**

**Retamal, P. 2011b.** Instructivo: Reacción de PCR. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. 3p. (LEI-I-004).

Anexo N° 4

**Método de difusión en placa (Kirby-Bauer)**

Este ensayo se realiza de acuerdo a las normas recomendadas por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007). Cepa Control: Se utiliza *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Procedimiento**

- 1. Preparación de las placas:** Se utiliza agar Muller-Hinton, preparado de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el fabricante.
- 2. Preparación de inóculos bacterianos:** Las cepas en estudio y la cepa control se siembran en 2 mL de APT y se incuban por 18 a 24 h a 36±1°C. Luego 100 µL de la suspensión bacteriana se inoculan en 5 mL de APT, se mide OD<sub>600</sub> en espectrofotómetro y se incuban en agitación a 37°C hasta alcanzar una OD<sub>600</sub> de 0,25 (1-5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL).

- 3. Inoculación de placas y aplicación de sensidiscos:** Cada suspensión bacteriana, es sembrada uniformemente sobre la superficie de una placa de agar MH usando una tórula de algodón estéril. Una vez inoculadas, las placas se dejan secar en reposo por algunos minutos para luego colocar sensidiscos equidistantes entre sí sobre el agar. Posteriormente, son incubadas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24 h en estufa.
- 4. Lectura e Interpretación de Resultados:** La lectura se realiza midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano proyectado desde el sensidisco, interpretándose como Sensible (S), Sensibilidad Intermedia (I) o Resistente (R) usando como pauta los rangos establecidos por el CLSI.

### Anexo N°5



**I ANTECEDENTES GENERALES**

0 Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 1 ID\_GPS: \_\_\_\_\_  
 2 Nombre contacto: \_\_\_\_\_  
 3 Teléfono cto: \_\_\_\_\_  
 4 Región: \_\_\_\_\_  
 5 Comuna: \_\_\_\_\_  
 6 Objetivo del SPT: a. Pecuario: \_\_  
 b. Agrícola: \_\_  
 c. Forestal: \_\_  
 e. Mixto: \_\_  
 f. Otro \_\_

**II ASPECTOS SOCIALES**

7 Actividad primaria sostenedor: \_\_\_\_\_  
 8 Composición del grupo Familiar: \_\_\_\_\_  
 9 Cuán importante son sus animales para la economía del hogar \_\_\_\_\_ (Escala de 1 a 5?)

**III CONDICIONES DE MANEJO**

10 **Especies productivas:** a. Aves: \_\_ b. Cerdos: \_\_ c. Otros domésticos: \_\_ d. Mascotas: \_\_  
 ¿Cuáles? \_\_\_\_\_ ¿Cuáles? \_\_\_\_\_

11 **Objetivo aves** a. Autoconsumo: \_\_  
 b. Venta: \_\_  
 c. Autoconsumo- Venta: \_\_  
 d. Tenencia de aves como mascota: \_\_

**Objetivo cerdos** a. Autoconsumo: \_\_  
 b. Venta: \_\_  
 c. Autoconsumo- Venta: \_\_  
 d. Tenencia de cerdos como mascota: \_\_

12 **¿Qué especies y cuántas aves tiene al momento de la encuesta?**

	especie	total
12.1	Gallina	
12.2	Pato	
12.3	Pavo	
12.4	Ganso	
12.5	Gallineta	
12.6		

**¿Cuántos cerdos tiene al momento de la encuesta?**

	machos	hembras	total
Adulto			
Juvenil			
Reproductor			
Lechones			

13 **Si tiene Reproductor**  
 Presta al macho para cubrir hembras de otros predios \_\_\_\_\_  
 Cuanto cobra por la monta (cerdos/dinero): \_\_\_\_\_

14 **Si tiene Reproductora**  
 Ingresan machos al predio? \_\_\_\_\_  
 Frecuencia ingreso machos: \_\_\_\_\_

15 Si la anterior no aplica:  
 ¿Ha criado aves alguna vez? \_\_\_\_\_  
 Cuándo? \_\_\_\_\_

Si la anterior no aplica:  
 ¿Ha criado cerdos alguna vez? \_\_\_\_\_  
 Cuándo? \_\_\_\_\_

16 **¿Hace cuánto tiempo cría:**

**¿Aves?** a. Menos de 2 años: \_\_  
 b. Entre 2 y 10 años: \_\_  
 c. Entre 11 y 20 años: \_\_  
 d. Más de 20 años: \_\_

**¿Cerdos?** a. Menos de 2 años: \_\_  
 b. Entre 2 y 10 años: \_\_  
 c. Entre 11 y 20 años: \_\_  
 d. Más de 20 años: \_\_

17 **Responsable del manejo aves:** a. Hombre: \_\_  
 b. Mujer: \_\_  
 c. Hijo(a): \_\_  
 d. Familia: \_\_

**Responsable del manejo/comercialización cerdos:** a. Hombre: \_\_  
 b. Mujer: \_\_  
 c. Hijo(a): \_\_  
 d. Familia: \_\_

18 **Responsable comercialización aves:** a. Hombre: \_\_  
 b. Mujer: \_\_  
 c. Hijo(a): \_\_  
 d. Familia: \_\_  
 e. No aplica \_\_

**Responsable comercialización cerdos:** a. Hombre: \_\_  
 b. Mujer: \_\_  
 c. Hijo(a): \_\_  
 d. Familia: \_\_  
 e. No aplica \_\_

**Encuesta Epidemiológica**

19	<b>¿Cuál es el nivel de confinamiento de las aves?</b> a. Libre:_____ b. Permanente:_____ c. Mixto:_____	<b>¿Cuál es el nivel de confinamiento de los cerdos?</b> a. Libre:_____ b. Permanente:_____ c. Mixto:_____
20	<b>¿Varía el número de aves en el año? ¿Cuándo hay más?</b> a. Primavera/Verano:____ b. Otoño/Invierno:____ c. No varía:____	<b>¿Varía número cerdos en el año? ¿Cuándo hay más?</b> a. Primavera/Verano:____ b. Otoño/Invierno:____ c. No varía:____
21	<b>¿Cómo obtiene los reemplazos de las aves?</b> a. Reemplazos Propios:____ b. Compra a vecinos:____ c. Compra en ferias:____ d. Compra a planteles comerciales:____ e. Obtenidos mediante proyectos del estado:____ f. Compra Intermediario:____ g. Presencia Broiler/Ponedoras (pico cortado): _____	<b>¿Cómo obtiene los reemplazos de los cerdos?</b> a. Reemplazos Propios:____ b. Compra a vecinos:____ c. Compra en ferias:____ d. Compra a planteles comerciales:____ e. Obtenidos mediante proyectos del estado:____ f. Compra Intermediario:____ g. Presencia de cerdos con cola cortada
22		<b>¿Cuándo nacen lechones?</b> _____
23	<b>¿En que consiste el alimento de las aves?</b> a. Restos del hogar:____ b. Alimento de aves:____ c. Forrajeo de las aves:____ d. Cereales (E): maíz:____ e. Mixto:____	<b>¿En que consiste el alimento de los cerdos?</b> a. Restos del hogar:____ b. Alimento de cerdos:____ c. Forrajeo de los cerdos:____ d. Cereales (E): harinilla:____ e. Mixto:____
24	<b>¿De donde proviene el agua que suministra a las aves?</b> a. Pozo:____ b. Canal:____ c. Potable:____ d. No le da:____	<b>¿De donde proviene el agua que suministra a cerdos?</b> a. Pozo:____ b. Canal:____ c. Potable:____ d. No le da:____
25	<b>¿Qué hace con las aves muertas?</b> a. Entierra:____ b. Quema:____ c. A la basura:____ d. Arroja lejos de la casa:____ e. Autoconsumo/ venta:____ f. Nada:____	<b>¿Qué hace con los cerdos muertos?</b> a. Entierra:____ b. Quema:____ c. A la basura:____ d. Arroja lejos de la casa:____ e. Auto consumo/venta:____ f. Nada:____
26	<b>¿Reconoce alguna enfermedad en las aves. Signología?</b> _____ _____ _____	<b>¿Reconoce alguna enfermedad en cerdos? Signología?</b> _____ _____ _____
27	<b>¿Qué hace si reconoce un ave enferma?</b> _____ _____ _____	<b>¿Qué hace si reconoce un cerdo enfermo?</b> _____ _____ _____
28	<b>¿Realiza algún tipo de manejo Sanitario o tratamiento a las aves?</b> a. Fármacos:____ b. Productos naturales:____ c. No realiza:____	<b>¿Realiza algún manejo sanitario/tratamiento a cerdos?</b> a. Fármacos:____ b. Productos naturales:____ c. No realiza:____
29	<b>Fármacos administrados a las aves:</b> _____ _____ _____	<b>Fármacos administrados a los cerdos:</b> _____ _____ _____
30	<b>¿Vacuna a las aves?</b> a. Si:____ b. No:____	<b>¿Vacuna a los cerdos?</b> a. Si:____ b. No:____
31	<b>¿Qué tipo de vacuna? _____</b>	<b>¿Qué tipo de vacuna? _____</b>
32	<b>¿Aves reciben la visita de algún veterinario o técnico?</b> a. Una vez al año:____ b. Mas de una vez al año:____ c. No reciben:____	<b>¿Cerdos reciben la visita de algún veterinario o técnico?</b> a. Una vez al año:____ b. Mas de una vez al año:____ c. No reciben:____

III BIOSEGURIDAD

33	¿Existe contacto entre las aves y los cerdos?	a. Si ____	b. No ____	c. No aplica: ____
<b>Condiciones de bioseguridad generales:</b>				
34	Cercos funcionales:	a. Si: ____	b. No: ____	
35	Presencia de pediluvios	a. Si: ____	b. No: ____	
36	Desinfección previo al manejo de animales	a. Si ____	b. No ____	
37	Desinfección posterior al manejo de animales	a. Si ____	b. No ____	
<b>Factores ambientales:</b>				
	Curso de agua al interior del SPT	a. Si ____	b. No ____	
38	Humedales/cursos de agua vecinos (3 Km)	a. Si ____	b. No ____	
39	Aves/cerdos en instalaciones colindantes	a. Si ____	b. No ____	
40	Planteles comerciales vecinos	a. Si ____	b. No ____	
	Aves tienen acceso a algún cuerpo de agua	a. Si ____	b. No ____	
41	¿Las aves pueden o tienen contacto con aves silvestres? a. Si: ____ b. No: ____		¿Cerdos pueden/tienen contacto con aves silvestres? a. Si: ____ b. No: ____	
42	¿Cuáles reconoce? _____		¿Cuáles reconoce? _____	
43	Las aves pueden o tienen contacto con: Animales de vecinos: a. Si: ____ b. No: ____		Los cerdos pueden o tienen contacto con: Animales de vecinos: a. Si: ____ b. No: ____	
44	Cuando ingresa un ave nueva a la granja (gallo): a. Lo separa un tiempo del grupo: ____ b. Lo junta inmediatamente con el grupo: ____ c. No aplica: ____		Cuando ingresa un cerdo nuevo a la granja: a. Lo separa un tiempo del grupo: ____ b. Lo junta inmediatamente con el grupo: ____ c. No aplica: ____	
45	¿Las visitas pueden tener contacto con las aves? a. Si: ____ b. No: ____		¿Las visitas pueden tener contacto con los cerdos? a. Si: ____ b. No: ____	
46	¿Usted regala huevos/gallinas? a. Si: ____ b. No: ____		¿Usted regala cerdos? a. Si: ____ b. No: ____	

IV ASPECTOS COMERCIALES

47	¿Qué productos obtiene de las aves y cual es el más importante ? a. Carne: ____ b. Huevos: ____ c. Aves vivas: ____ d. Guano: ____	¿Productos obtiene de los cerdos, el más importante ? a. kg animal: ____ b. Lechones: ____ c. Otros: ____
48	¿Cuántos huevos recoge al día? _____	
49	¿Cuál es el precio? Huevos: _____ Aves Vivas: _____ Carne: _____ Guano: _____ Otro: _____	¿Cuál es el precio? Carne: _____ Lechones: _____ Otros: _____
50	Si vende, ¿Cuál es su principal mercado? a. Vecinos/ Familia: ____ b. Turistas: ____ c. Mercados locales: ____ d. Intermediario: ____ e. Mas de un mercado: ____ f. Restaurante: ____	¿Si vende, ¿Cuál es su principal mercado? a. Vecinos/ Familia: ____ b. Turistas: ____ c. Mercados locales: ____ d. Intermediario: ____ e. Mas de un mercado: ____ f. Restaurante: ____

51	¿Cuánto huevos vende al mes? _____	¿Cuánto cerdos vende al mes? _____
52	¿Cuántas aves vivas vende al mes? _____	¿De cuántos kilos? _____
53	¿Cuántos huevos come a la semana? _____	¿Cuántos cerdos faena al año?
54	¿Cuántas aves come a la semana _____	
55	¿Cuántos huevos (mercado) compra al mes? _____	
56	¿Cuánto pollo (mercado) compra al mes? _____	
57	¿Cuánto gasta en alimentar aves al mes? _____	¿Cuánto gasta en alimentar cerdo al mes? _____
58	<b>Animales reciben inspección o visitas del SAG:</b> a. Si:___ b. No:___	
59	<b>Si recibe visitas del SAG:</b> ¿SAG toma Muestras? a. Si:___ b. No:___	
60	¿SAG le envía los resultados? c. Si:___ d. No:___	
61	¿SAG regresa al SPT? e. Si:___ f. No:___	
62	<b>Animales reciben inspección o visitas de INDAP/PRODESAL:</b> a. Si:___ b. No:___	