



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



DETECCIÓN DE *Salmonella* spp. MEDIANTE MUESTREO
FECAL SERIADO EN DOS CENTROS ECUESTRES DE LA
REGIÓN METROPOLITANA, CHILE

MIRLA CAROLINA ORELLANA ROMERO

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

Profesora Guía: Dra. Consuelo Borie Polanco M.V. M.S.c.

Financiamiento FONDECYT N° 1080291
Dirección General de Fomento Equino y Remonta del Ejército de Chile

SANTIAGO, CHILE
2010

Dedicatoria

Por sobre todo, gracias MAMÁ por tu infinito amor y exclusiva dedicación. Por cuidar de mi cada vez que lo necesité, por corregirme y tratar de hacer de mi una buena persona, humilde, sencilla, correcta y por sobre todo veraz... hoy abro mis alas. Siempre Te Amo.

A mis hermanos Rodrigo y Marce, con quienes crecí y formé un escudo indestructible. Siempre estaremos juntos. Rodrigo: Gracias por ayudarme a estudiar, no lo habría logrado sin tu sacrificio. Eres un orgullo. Marce: mi peque "porque todo cambia y no estamos aquí de visita", por ser tan chica y tan grande a la vez.

Emilio: no hay camino sin ti y nada está hecho sin tus manos o tu consejo. Gracias por tu paciencia... por esperar tanto tiempo por mi. "cuando no tenía nada deseé, cuando todo era ausencia esperé, cuando tuve frío temblé, cuando tuve coraje llame".

A mi padre que sembró en mi, el camino del amor a la constancia. Gracias por ser un verdadero profesor, por enseñarme con tanta dedicación, eso marcó mi vida.

July, Franie y Paz... toda mi gratitud por tantos buenos momentos, por tanta risa, por cada historia y por ser mi sostén cuando lo necesité, por cierto... "paul is not dead".

A mi profesora guía Dra. Consuelo Borie y a mi profesor consejero Dr. Mario Acuña: gracias a ambos por sus consejos, comprensión y apoyo en los momentos más débiles y difíciles. Por permitirme trabajar con caballos. Un sueño.

Al Dr. Patricio Retamal, por su cordialidad y por las sugerencias para hacer de esta memoria, un mejor trabajo.

Dra. M^a Antonieta Jara y Dra. M^a Luisa Sánchez gracias por su calidez y por toda la contención emocional durante la realización de esta memoria.

Quisiera agradecer a la Dirección General de Fomento Equino y Remonta del Ejército de Chile, especialmente al Mayor Dr. Iván Núñez, Comandante de la Sección Veterinaria del Regimiento de Artillería N° 1 Tacna, por la disposición prestada para trabajar con los equinos de esta unidad, así como también a los Cabos Enfermeros que cooperaron durante la identificación de los ejemplares y la obtención de muestras.

Al Mayor Dr. Cristián Landero, Comandante de la Sección Veterinaria de Escuela Militar, por su preocupación por desarrollar de la mejor forma posible todo el proceso de obtención de muestras, así como también al soldado Sr. León, por su gentil y atenta ayuda durante todo este proceso.

Finalmente, no me puedo olvidar de mis amigas: Liss y Nasrim, con quien he compartido tantos buenos momentos. A todas: July, Fran, Paz, Liss y Nasrim la mejor suerte, en esta nueva etapa.

Este trabajo, es mi esfuerzo y el inicio de un nuevo viaje... con todo, todo, todo mi amor para aquellos que están en mi corazón.

Mirra Orellana R.

*"Sea como las olas del mar, que aún rompiendo contra las rocas
encuentran fuerza para continuar"
(Sergio Bambaren)*

Financiamiento

El presente estudio fue patrocinado por la Dirección General de Fomento Equino y Remonta del Ejército de Chile (Anexo 1) y parcialmente financiado por el Proyecto Fondecyt N° 1080291. La totalidad de las muestras obtenidas durante el estudio, fue procesada en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Índice

	Página
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
1. DESCRIPCIÓN DEL AGENTE.....	4
2. PATOGÉNESIS DE LA INFECCIÓN.....	5
3. ASPECTOS CLÍNICOS EN EL EQUINO.....	10
4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN.....	15
5. DIAGNÓSTICO DE <i>Salmonella</i> spp.....	22
6. CULTIVO BACTERIOLÓGICO TRADICIONAL.....	27
7. IMPACTO EN SALUD PÚBLICA.....	30
HIPÓTESIS.....	33
OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS.....	33
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
1. ANIMALES.....	34
2. SISTEMA DE MUESTREO.....	36
3. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	37
4. SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	40
5. BIOSEGURIDAD.....	40
RESULTADOS.....	41
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIÓN.....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXO 1.....	62
ANEXO 2.....	64

RESUMEN

Dada la compleja epidemiología que siguen las infecciones con *Salmonella* spp. y el impacto de la enfermedad en salud pública, es que se vuelve importante reconocer a los animales portadores de la bacteria. Estos individuos que en forma asintomática diseminan el microorganismo a través de sus deposiciones, contribuyen en la perpetuación del agente en el ambiente y a la infección de individuos sanos, de modo que cualquier medida destinada a la prevención o al control del patógeno, debe considerar el diagnóstico no sólo de los enfermos, sino que también el de los portadores.

Considerando lo anterior, este estudio se propuso conocer la portación intestinal de *Salmonella* spp. en todos los equinos existentes en dos Unidades Militares de la Región Metropolitana, entre los meses de Abril y Agosto del año 2009. De forma complementaria, se propuso determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas. Para este fin, se realizó un muestreo fecal seriado de cinco días consecutivos a doscientos equinos sin distinción de sexo, raza ni edad. Como método de aislamiento bacteriano se usó el medio de enriquecimiento caldo Tetracionato incubado a 37 °C por 72 horas, resemebrando a las 48 y 72 horas en el medio selectivo, agar XLD. Las placas sembradas se incubaron a 42 °C por 24 horas. La identificación de las colonias sospechosas, se efectuó mediante estudio de propiedades bioquímicas y por aglutinación con suero polivalente.

De los doscientos caballos estudiados, ninguno fue pesquisado como portador fecal de *Salmonella* spp. en las cinco muestras seriadas analizadas. Estos resultados sugieren que ninguno de estos animales representaría un riesgo sanitario de salmonelosis para la población civil y militar que se relaciona con ellos.

SUMMARY

Given the complex epidemiology which follows the *Salmonella* spp. infections and the impact of this disease in public health, the recognition of the animals carrying bacteria becomes important. These individuals, that asymptotically disseminate the microorganism through their stools, contribute to the agent perpetuation in environment and to infection of healthy individuals. Therefore, any preventive or control measures must consider not only the disease diagnosis, but the carrier state as well.

Considering this, the goal of the study was to know the intestinal carrying of *Salmonella* spp. in every equine within two Military Units in "Region Metropolitana", during the period from April to August 2009. Also, the antimicrobial susceptibility of isolated strains was identified. In order to do so, a fecal sampling was performed, seriating samples of five consecutive days and two hundred equines without distinction of gender, race or age. A Tetrathionate medium enrichment method was used for bacterial isolation, incubated at 37 °C for 72 hours and re-seeded at 48 and 72 hours in the selective medium, XLD agar. The inoculated culture mediums were incubated at 42°C for 24 hours. The identification of suspicious colonies was made through the study of biochemical properties and by agglutination with a polyvalent serum.

Among the two hundred horses in study, no one of them was assessed as carrier of fecal *Salmonella* spp. within the five seriated analyzed samples. These results suggest that none of them could represent a sanitary risk for the civil and military population that relates with them.

INTRODUCCIÓN

La Salmonelosis en los equinos se caracteriza por producir un cuadro diarreico agudo y en menor medida cuadros sépticos. No obstante, existen animales que permanecen como portadores asintomáticos de la bacteria y que la eliminan en sus deposiciones al medio en forma intermitente y crónica. De hecho, en la actualidad se conocen una serie de factores que favorecen la eliminación fecal en los individuos portadores. Es por ello, que la condición de portador es compleja, no sólo desde el punto de vista diagnóstico sino también desde la perspectiva epidemiológica.

Las deposiciones contaminadas con *Salmonella* spp., representan un riesgo para el personal que trabaja con equinos, ya que estas pueden contaminar cursos de agua, alimentos y ser fuente de contagio para otros caballos. Todo lo anterior genera la necesidad de reconocer a los portadores a fin de tomar medidas sanitarias apropiadas, procurando mantener la salud del personal y de los mismos animales.

Diversos métodos diagnósticos han sido evaluados en su capacidad de detectar la bacteria. Entre ellos, se presentan el cultivo bacteriológico, los métodos inmunológicos y la detección del genoma por medio de PCR ("polymerase chain reaction"). Respecto a estas técnicas, el método bacteriológico resulta interesante de analizar, por un lado, es el único que permite aislar la bacteria y por otro, la eficiencia de sus resultados se basa en la obtención de muestras seriadas, condición que estaría dada por la eliminación intermitente del microorganismo en las heces del animal. Una única muestra no permite obtener un diagnóstico certero, por lo que el resultado del método mejoría en la medida que se obtengan más muestras en función del tiempo.

Dado lo anterior, el presente estudio utilizó como método diagnóstico, el cultivo bacteriológico tradicional, empleando un muestreo fecal seriado de cinco días consecutivos, con el objeto de detectar la portación fecal de *Salmonella* spp. en equinos provenientes de dos Unidades Militares de la Región Metropolitana de Chile.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. DESCRIPCIÓN DEL AGENTE

1.1. Taxonomía

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa que pueden presentar tanto los animales como el ser humano, siendo causada por bacterias del género *Salmonella*.

La taxonomía de dicho agente, controversial durante mucho tiempo, la clasifica dentro de la Familia *Enterobacteriaceae* y reconoce dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. La especie *enterica* incluye a seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. De todas ellas, la subespecie *enterica* comprende el 99% de los aislados de muestras clínicas. Por otra parte, siguiendo la clasificación serológica de Kauffmann – White, basada en la estructura antigénica de la bacteria, se definen la presencia de antígenos somáticos O y flagelares H, que identifican a los serogrupos y serotipos respectivamente, además de antígenos de superficie Vi. Actualmente, se han identificado alrededor de 2400 serotipos distintos de *Salmonella*, siendo ésta, una de las razones por la que algunos investigadores consideran a este grupo, como el más complejo de todas las enterobacterias (Popoff y Le Minor, 1984; Parra *et al.*, 2002; OIE, 2004).

1.2. Ecología

Este bacilo Gram negativo, se halla ampliamente diseminado en el ambiente y se ha aislado en todo el mundo, fundamentalmente desde efluentes de granjas, aguas cloacales o cualquier material sujeto a contaminación fecal. *Salmonella* parece tener mayor prevalencia en áreas con crianza intensiva de animales, principalmente aves de corral y cerdos (OIE, 2004).

Ya estando en el ambiente, la bacteria puede infectar a un sinnúmero de especies animales. Las aves y los reptiles se consideran reservorios y potencialmente puede afectar a todos los mamíferos, entre ellos al ser humano y al equino ([Warwick et al., 2001](#); [OIE, 2004](#)).

2. PATOGÉNESIS DE LA INFECCIÓN CON *Salmonella* spp.

2.1. Mecanismos de Adhesión

Las infecciones con *Salmonella* usualmente comienzan con la ingestión del microorganismo que contamina el agua o los alimentos. Posterior a esto, debe sortear una serie de barreras defensivas del hospedero, tales como el bajo pH gástrico, el peristaltismo intestinal, la flora saprófita del tracto digestivo y por supuesto, la inmunidad local dada por la presencia de Inmuglobulina A (IgA) ([Sánchez y Cardona, 2003](#); [Figuroa y Verdugo, 2005](#)).

No obstante, la supervivencia del patógeno dentro del hospedero, depende en primer lugar de su habilidad para adherirse a un determinado sustrato, siendo las **adhesinas** las estructuras encargadas de dicha función. Las adhesinas reconocen **receptores** en las células del hospedero, que se caracterizan por presentar una estereoquímica específica. Esta capacidad de reconocimiento determina a qué especies animales puede afectar y el órganotropismo de la bacteria; además la unión adhesina–receptor tiene la capacidad de activar determinadas respuestas inmunes, como son la activación y proliferación de las poblaciones de linfocitos B y neutrófilos, así como también la secreción de citoquinas ([Figuroa y Verdugo, 2005](#)).

En términos generales, el proceso de adhesión puede realizarse mediante dos formas: directamente en la superficie de la célula hospedera o bien, sobre la superficie de la matriz extracelular; en este sentido la fimbria SEF17 media la adherencia a componentes de dicha matriz, como por ejemplo: fibronectina, laminina y plasminógeno. Se consideran también adhesinas la **cápsula** y el **flagelo**, aunque su presencia depende del serotipo, así por ejemplo *S. Typhi*, *S.*

Paratyphi C y *S. Dublin* presentan cápsula, mientras que todas las *Salmonellas* se consideran móviles a excepción de *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*. También se consideran las **fimbrias** como factores de adhesión y *Salmonella* expresa una amplia variedad de ellas, aunque con diferente especificidad de unión a su receptor. Dentro de las fimbrias más conocidas se hallan SEF 14, SEF 17 y SEF 18 (Figueroa y Verdugo, 2005).

2.2. Mecanismos de Invasión

La adhesión de la bacteria al receptor, promueve un mecanismo de disparo o “trigger”, a través del cual una serie de proteínas efectoras (SipA, SopB, SopE y SopE2) del Sistema de Secreción tipo III, son enviadas por la bacteria al citoplasma de la célula eucariota con el fin de inducir un reordenamiento del citoesqueleto y por lo tanto, alterar la morfología del borde en cepillo del epitelio intestinal, proceso denominado “ruffling”. Por medio de este proceso, la bacteria es englobada en una vesícula e incorporada al interior de la célula. Una vez dentro de la célula, el borde en cepillo vuelve a su normalidad y la vesícula o vacuola contenedora de *Salmonella* (SCV) se dirige hacia la membrana basal dentro de la célula epitelial, eludiendo la unión con lisosomas (Sánchez y Cardona, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005).

Se debe considerar que este proceso de invasión, denominado por algunos autores como **endocitosis mediada por bacteria**, requiere de la síntesis coordinada de múltiples proteínas bacterianas y se puede ver inhibida por señales específicas de las células del hospedero a nivel de las vías de transducción y organización del citoesqueleto de las células que invade (Ohl y Miller, 2001).

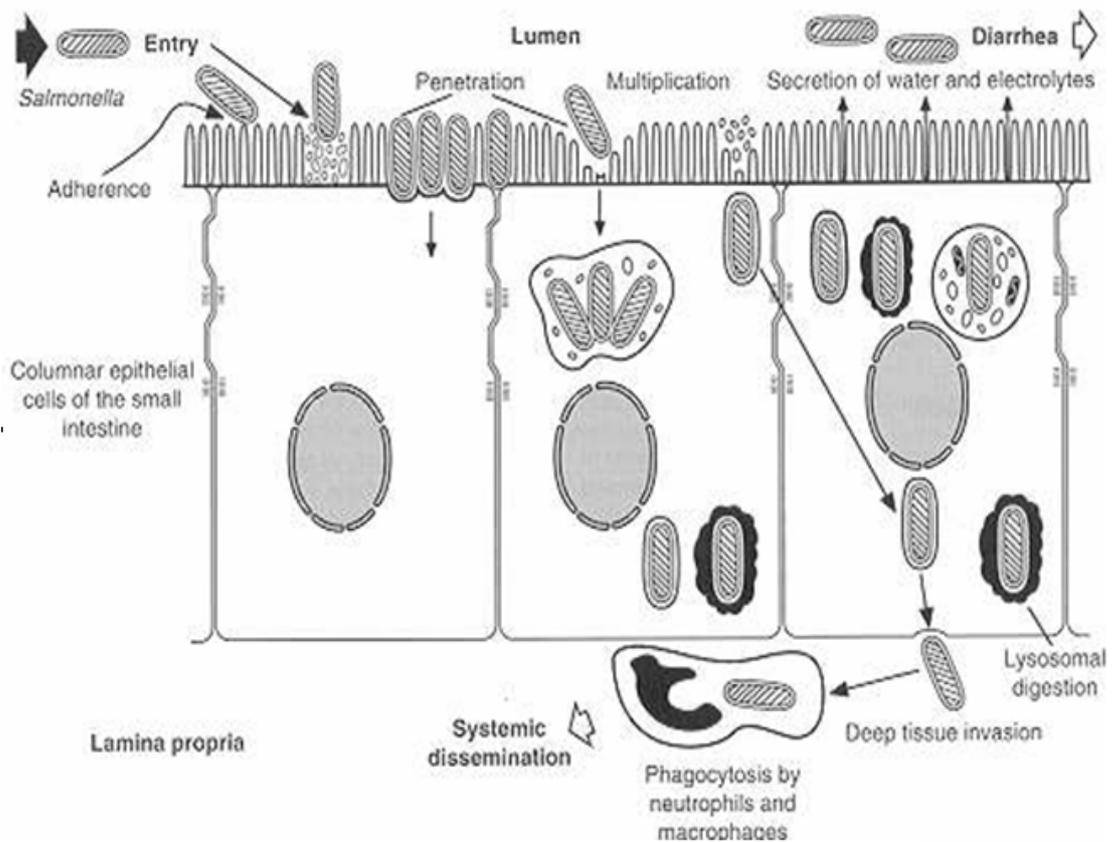
Varias rutas de invasión han sido estudiadas, por ejemplo en ratones, se ha visto que *Salmonella* se adhiere y penetra con mayor frecuencia las células M (macrófagos) del epitelio intestinal, las cuales cumplen un rol inmune ya que presentan antígenos a las células linfoides que derivan de las placas de Peyer, actividad fundamental en la inmunidad primaria de la mucosa

intestinal. Sin embargo, lo anterior parece no ser relevante en el bovino, ya que en esta especie, no habría una preferencia por el paso mediante células M y sólo se realizaría a través de células comunes del epitelio intestinal. Por otro lado, algunas investigaciones sugieren que la bacteria podría atravesar el epitelio intestinal en forma pasiva siguiendo la migración de fagocitos CD18+, tras ser fagocitada por los mismos (Ohl y Miller, 2001; Sánchez y Cardona, 2003).

Una vez que la bacteria cruza el epitelio, encuentra la presencia de macrófagos en la submucosa, a los cuales ingresa tras inducir su macropinocitosis, además de activar los mecanismos que le permiten evadir las funciones microbicidas del fagocito, permitiéndole así, sobrevivir y replicar dentro del ambiente intracelular. Con la migración del macrófago hacia otros órganos del sistema retículo endotelial, *Salmonella* facilita su propia diseminación dentro del hospedero (Ohl y Miller, 2001; Parra *et al.* 2002; Figueroa y Verdugo, 2005).

Además de la invasión, aquellos serotipos asociados a enteritis inducen una respuesta secretoria en el epitelio intestinal, la cual se debe a la migración de neutrófilos dentro del lumen digestivo, lo que estaría dado por la producción de Interleuquina 8. La llegada masiva de polimorfonucleares hace que se liberen prostaglandinas que afectan el metabolismo de la adenilato ciclasa, aumentando los niveles de AMPc, lo que genera la interrupción de la absorción de sodio y el aumento de la secreción de cloro por parte de la célula, ocasionando clínicamente diarrea (ver Figura 1) (Parra *et al.*, 2002).

Figura 1. Patogénesis de la Infección Intestinal por *Salmonella* spp.



Fuente: The University of Texas Medical Branch at Galveston

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=mmed&part=A1233>>

2.3. Islas de Patogenicidad Asociadas a Virulencia

El análisis de la estructura genética de los patógenos bacterianos revela que los genes de virulencia se hallan localizados en determinadas regiones del cromosoma, los cuales reciben el nombre de islas de patogenicidad. Estas islas en el caso de *Salmonella enterica* son cinco (Ohi y Miller, 2001; Parra *et al.*, 2002):

- **SPI-1:** que posee los genes necesarios para la invasión del epitelio intestinal y la inducción de la respuesta inflamatoria, además del sistema de secreción tipo III (que posee los genes *inv*, *spa*, *prg* y *org* encargados de formar las proteínas constituyentes del sistema de secreción).
- **SPI-2:** codifica los genes para la replicación intracelular y la sobrevivencia en dicho ambiente, por lo tanto aquellos que están envueltos con la fase sistémica de la infección.
- **SPI-3:** induce la síntesis de un transportador de magnesio de alta afinidad, el cual le permite la sobrevivencia dentro del fagosoma.

Aparentemente, no es tan claro el rol de las islas de patogenicidad cuatro y cinco, sin embargo Figueroa y Verdugo (2005) indican que:

- **SPI-4:** codifica el Sistema de Secreción tipo I (SSTI) que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos. Actualmente, se ha demostrado la producción de enterotoxinas por parte de *S. Typhimurium* y *S. Typhi*, las cuales parecen ser similares a las producidas por *Vibrio cholera* (CT) y la toxina termolábil de *E. coli* (LT).
- **SPI-5:** codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, tales como SopB (SigD) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en la migración de macrófagos.

3. ASPECTOS CLÍNICOS EN EL EQUINO

3.1. Consideraciones Generales

Algunos autores indican que la exposición a *Salmonella* es frecuente tanto en el ser humano como en los animales, pero que la cantidad de bacterias necesarias para generar la enfermedad marca la diferencia. [Sánchez y Cardona, \(2003\)](#) indican un rango de 10^6 - 10^8 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) como dosis infectante, mientras que [Popoff y Le Minor, \(1984\)](#) indican que esta dosis puede reducirse hasta 10^3 UFC. En el otro extremo la [OMS \(1988\)](#), indica que bastaría con el consumo de 3 – 10 bacterias por gramo de algunos alimentos para cursar la enfermedad.

Independiente de si se trate del ser humano o de los animales, la presentación de los síntomas va a depender de factores, tales como: los serotipos que actúen, la invasividad de la cepa, el estado fisiológico, la edad y la competencia del sistema inmune del hospedero ([Ohl y Miller, 2001](#); [Parra et al., 2002](#); [Sánchez y Cardona, 2003](#)).

3.2. Clasificación de los Cuadros de Salmonelosis

Para la [OMS, \(1988\)](#) la infección con *Salmonella* en los animales puede clasificarse como:

- **Infecciones con manifestaciones clínicas patognomónicas:** fundamentalmente las infecciones que cursan con aborto en el ganado vacuno, caballar y ovino.
- **Infecciones clínicas que indican una salmonelosis clásica:** con síntomas gastrointestinales o septicémicos y cuya mortalidad parece mayor en individuos jóvenes.

- **Infección asintomática:** pudiendo quedar como portadores tanto los animales como las personas.

Smith (1981), ha categorizado la infección por *Salmonella* en los equinos, de acuerdo a los signos clínicos y a la severidad de los mismos, tal como sigue:

- **Diarrea severa – aguda:** esta es la forma más comúnmente reconocida en los equinos. La diarrea disminuye en un período de semanas, después de lo cual la pérdida de peso corporal se va recuperando. Como secuela pueden aparecer adhesiones sobre las serosas de las paredes del intestino, resultando en cólicos varios meses después de haberse recobrado.
- **Bacteriemia:** más frecuente en potrillos, aunque también puede presentarse en adultos con diarrea.
- **Fiebre, anorexia y depresión:** signos clínicos similares a los observados en el síndrome influenza. Las deposiciones aparecen suaves, pero no severamente diarreicas. Hay absoluta neutropenia y los síntomas remiten al cabo de cuatro o cinco días.
- **Infección asintomática:** en esta categoría, se presentan dos formas. La primera, es el **portador activo** el cual se caracteriza por eliminar *Salmonella* en sus deposiciones, mientras que el **portador pasivo** es aquel que no elimina la bacteria. Lo más relevante de esta categoría, radica en que estos caballos eliminan un pequeño número de la bacteria en forma intermitente, por lo cual son requeridos múltiples cultivos fecales para conseguir un aislamiento exitoso.

3.3. Presentación Clínica en el Equino

Sin duda, la enterocolitis aguda tóxica es el cuadro más común de observar en esta especie, pero también podría presentarse como un fenómeno séptico generalizado, siendo esto más frecuente en neonatos (Weese, 2002; Feary y Hassel, 2006).

Los ejemplares adultos exhiben: fiebre, anorexia depresión, dolor abdominal, diarrea profusa y acuosa, y en algunos casos se ha asociado a impactación del colon menor (Rhoads *et al.*, 1997; Divers, 2003). Por otro lado, *Salmonella Abortus equi* puede ser causa de aborto tardío en yeguas de siete u ocho meses de gestación, retención de placenta y metritis, mientras que en padrillos (potros reproductores) puede ocasionar orquitis y balanitis (SPC, 2009). Los potrillos presentan fiebre, depresión, anorexia, diarrea hemorrágica, neumonía, meningitis y claudicación debido a artritis y fisisis séptica (Divers, 2003). La enterocolitis en potrillos es frecuente y debe ser diferenciada de infecciones producidas por *Escherichia coli*, *Rhodococcus equi*, *Clostridium difficile* y *C. perfringens*, además de *Salmonella* spp. (Dwyer, 2001; Carvajal¹, 2009).

La literatura indica que los neonatos de 12 horas de edad y los potrillos hasta los cuatro meses, parecen ser los más susceptibles a la infección, dicha susceptibilidad se atribuye al cierre temprano del epitelio intestinal que impide el posterior ingreso de las Ig del calostro, a la inmadurez del sistema inmune celular y del complemento, además de la deficiente higiene de los lugares de parto. Una ruta de contagio, es la descrita por Slovis (2007), quien señala que madres portadoras de *Salmonella* spp. pueden contaminar a sus crías en el momento del parto, ya que durante las primeras fases de este, al defecar contaminarían su zona perianal y posteriormente las membranas fetales, contribuyendo a la ingesta de la bacteria por parte del recién nacido.

¹ Carvajal, Sergio. 2009. [Comunicación Personal] Médico Veterinario, Especialista en Reproducción Equina. Presidente de la Asociación Chilena de Veterinaria Equina (ACHVE).

3.4. Tratamiento y Manejo General del Animal Enfermo

El uso de antimicrobianos en la terapia de los equinos con salmonelosis es controversial, fundamentalmente porque su administración prolonga la eliminación fecal de *Salmonella* favoreciendo la eliminación de la bacteria en caballos con infección latente. De hecho, no existe evidencia de que la terapia antimicrobiana sea benéfica y altere el curso de la infección en caballos adultos. Frente a estas evidencias, hoy en día se sugiere que las terapias sean enfocadas a casos de septicemia o inmunocompromiso del caballo. En estos casos, se deberá seleccionar un antimicrobiano de estrecho espectro de acción, bactericida, buena penetración celular y mínimo efecto sobre la flora comensal (Feary y Hassel, 2006).

Divers (2003), indica que los datos de sensibilidad de la cepa en cuestión son claves en la elección del antimicrobiano, dado el fenómeno de multiresistencia de estas. En cuanto al uso de bactericidas, también lo sugiere como alternativa frente a casos de compromiso inmunitario y procedimientos invasivos como abdominocentesis. En el caso de potrillos, donde la septicemia es frecuente, se ha documentado la eficacia *in vivo* e *in vitro* de Amikacina y Cefalosporinas de tercera generación.

En los adultos en cambio, se ha utilizado Enrofloxacino en dosis de 5 mg/kg cada 24 horas vía endovenosa o bien, Gentamicina en dosis de 6,6 mg/kg una vez al día vía endovenosa o intramuscular. En ambos casos, se ha visto una escasa resistencia antimicrobiana de las cepas aisladas desde equinos (Feary y Hassel, 2006).

La multiresistencia a antimicrobianos complica y retarda las terapias, además deja de manifiesto que los serotipos con resistencia múltiple presentes en equinos, pueden presentarse también en el ser humano. Un ejemplo de esto, es el serotipo Typhimurium fagotipo DT 104 resistente a Ampicilina, Cloramfenicol, Estreptomina, Sulfisoxazol y Tetraciclina, que apareció en

la década de los noventa y que hoy en día se ha aislado no sólo en las personas sino también en varios animales domésticos y por supuesto en el equino (CDC, 2003).

En términos de cifras, investigaciones como las de Zhao *et al.* (2007), muestran que en cepas de *Salmonella* de origen equino, la resistencia a más de un antimicrobiano es del 20%. Ward *et al.* (2005b), describieron un brote de salmonelosis presentado por caballos del Hospital de Enseñanza Veterinaria de la Universidad de Purdue durante el año 2000, en el cual identificaron a *S. Typhimurium* multiresistente como responsable de los casos observados. El serotipo fue considerado resistente a: Amoxicilina, Ampicilina, Cefazolina, Cefoxitina, Ceftiofur, Cefalotina, Cloramfenicol, Gentamicina, Ormetoprim, Rifampicina, Tetraciclina, Ticarcilina y Sulfadiazina/Trimetoprim.

En forma explícita, algunos autores indican que las cepas multiresistentes de *Salmonella* aisladas desde equinos, pueden ser transferidas a los humanos a través de contacto directo o indirecto (CDC, 2003; Espie *et al.*, 2005; Vo *et al.*, 2007).

En los equinos, muchos brotes de salmonelosis nosocomial han sido reportados y algunos de estos se han asociado a cepas multiresistentes de ciertos serotipos tales como *S. Anatum*, *S. Infantis*, *S. Heidelberg*, *S. Agona*, *S. Krefeld*, *S. Saintpaul*, *S. Give* y *S. Newport* (Traub-Dargatz *et al.*, 2002; Dargatz y Traub-Dargatz, 2004).

Dado todo lo anterior, es que hoy en día se considera a la **terapia de soporte**, como el eje central en el tratamiento de la salmonelosis equina. Esta terapia, deberá incluir al menos tres aspectos: la reposición de fluidos, el control de los procesos inflamatorios y el control de los procesos oxidativos (Divers, 2003).

4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN

4.1. Transmisión del Patógeno

La transmisión de *Salmonella* spp. en los equinos, al igual que en la mayoría de los animales y en el ser humano, ocurre fundamentalmente por la vía oro-fecal, aunque también puede ocurrir a través de las membranas mucosas de los ojos y por la nariz, mediante aerosoles. En general, la ruta de infección para el equino, involucra la contaminación del alimento y del agua de bebida con las deposiciones de los diseminadores de la bacteria, pudiendo ser estos: aves, roedores u otros caballos infectados (ADDL, 2005). Un ejemplo de lo anterior ocurrió en la República de Islandia en Diciembre de 2008, donde 41 equinos se infectaron con el agente, presentando una letalidad del 53%. El estanque de agua, desde el cual se regaban las pasturas que los animales consumían, fue identificado como la fuente de contaminación, sin embargo la forma en que este se contaminó, no quedó claramente establecida (Weese, 2008).

4.2. Importancia del Portador

El estado de portador, es el estado epidemiológico de mayor importancia en los animales. La falta de síntomas en la mayoría de los casos y las dificultades técnicas para detectar estos individuos antes de la inspección de la carne o durante la misma, los convierte en una fuente continua de contaminación del medio ambiente y de los productos de origen animal. Una vez que el portador contamina el ambiente con sus deposiciones infectadas, se puede aislar *Salmonella* desde cursos de agua, barro cloacal y diversos productos agrícolas, siendo todos ellos, fuentes de contagio para el ser humano y para otros animales (OMS, 1988).

Un portador asintomático, elimina la bacteria en sus deposiciones hacia el ambiente, en una pequeña cantidad y en forma intermitente (Smith, 1981).

En el caso específico de los caballos que se recuperan de salmonelosis clínica, pueden eliminar la bacteria por un período de tiempo desconocido; respecto a esto, [Slovis \(2007\)](#) indica que en el 60% de los casos no se ha podido detectar al microorganismo una vez que transcurren 30 días desde la recuperación de los síntomas clínicos y que a los 90 días, en el 95% de los casos no se detecta la bacteria. Esta razón, hace que en la práctica, los caballos que se han recuperado de la enfermedad, pasen un período mínimo de 30 días aislados físicamente del resto de los caballos u otros animales.

Cuando un caballo enfermo o no (asintomático) libera *Salmonella* al ambiente, es difícil erradicarla de ese sitio, porque la bacteria posee la capacidad de sobrevivir en el suelo por 300 días, en el agua por más de nueve meses y en deposiciones por 30 meses. La congelación, no la mata, particularmente si se halla protegida con materia orgánica, mientras que la exposición a la luz solar, sí ([ADDL, 2005](#)).

4.3. Prevalencia de la Eliminación Fecal de *Salmonella*

La prevalencia de la eliminación fecal de la bacteria en los equinos se ha estudiado en dos condiciones: en primer lugar como **prevalencia en la población general** y en segundo, como **prevalencia en hospitales veterinarios**, toda vez que la bacteria se encuentra asociada a infecciones intrahospitalarias o nosocomiales ([Carter et al., 1986](#); [Ravary et al., 1999](#); [Traub-Dargatz et al., 2000a](#); [Ewart et al., 2001](#); [Ward, et al., 2003](#); [Cepeda, 2005](#); [ADDL, 2005](#); [Traub-Dargatz, 2005](#); [Feary y Hassel, 2006](#)).

- **Prevalencia de Eliminación Fecal en la Población General:**

[Traub-Dargatz et al. \(2000a\)](#), indican que en Estados Unidos el “National Animal Health Monitoring Systems” (NAHMS), realizó una estimación de la prevalencia de eliminación fecal en la población general de caballos. Para ello, se incluyeron 28 Estados norteamericanos, desde donde

se seleccionaron predios que contaran con al menos tres equinos, muestreándose cada predio de la siguiente forma: con 10 ó menos equinos residentes se muestrearon todos; entre 11-19 equinos se muestrearon 10; entre 20-49 equinos se muestrearon 15 y sobre 50 equinos se muestrearon sólo 20 de ellos. En la selección de ejemplares, no se consideró la edad, el sexo, ni la raza, así como tampoco la presencia o ausencia de sintomatología sugerente de salmonelosis. De cada animal se obtuvo sólo una muestra de deposición la cual fue evaluada a través de cultivo bacteriológico tradicional. En el estudio participaron 972 predios y se obtuvo un total de 8.417 muestras de heces fecales, de las cuales 4.643 fueron colectadas en verano (entre Junio y Septiembre de 1998) y 3.774 fueron obtenidas en Invierno (entre Noviembre de 1998 y Marzo de 1999). Los resultados del estudio estimaron la prevalencia de eliminación fecal de *Salmonella* del 0,8% en la población general de individuos, valor que cambió según la estación del año, de tal modo que en verano la prevalencia fue menor que en Invierno. También se encontraron diferencias en la prevalencia de eliminación según zona geográfica, atribuyéndose una prevalencia de 1,4% a los Estados del sur y de 0,2% a los Estados del norte.

[Traub-Dargatz et al. \(2000b\)](#), indican que la prevalencia en caballos de granjas podría ser levemente mayor, llegando al 1,8%.

En Chile, los datos publicados de prevalencia son escasos. Entre Noviembre de 2004 y Agosto de 2005 se estudió la portación fecal de *Salmonella* en 45 equinos en confinamiento (pertenecientes a dos centros ecuestres de la V región) y 45 equinos en semiconfinamiento (pertenecientes a tres Criaderos de la Tercera Región). De los animales, se obtuvieron dos muestras de heces, separadas cada una por una semana. Las muestras, cuyo peso aproximado fue de 10 g, fueron puestas en un medio de pre-enriquecimiento (agua peptonada) por 24 horas a 37 °C y posteriormente tres alícuotas de 1 mL cada uno fueron resuspendidas, en 9 mL de caldo de Tetracionato, caldo Selenito Cistina y caldo Rappaport Vassiliadis, respectivamente. Los tres caldos se incubaron a 37 °C por 24 horas y posteriormente fueron sembrados en placas de agar XLD y *Shigella-Salmonella*. Se realizó además, la serotipificación de las cepas. Los resultados de

la investigación indicaron que tres de 45 caballos en semiconfinamiento portaban *Salmonella* en sus deposiciones. El microorganismo no se aisló a partir de animales en confinamiento. Con estos datos se puede inferir que la prevalencia de eliminación fecal de *Salmonella* en la población estudiada fue 6,6 % (3/45). Por otra parte, los serotipos aislados fueron *S. Typhimurium* y *S. Minnesota* (Cepeda, 2005).

- **Prevalencia de Eliminación Fecal en Hospitales Veterinarios**

En este punto, hay que considerar dos hechos, en primer lugar la prevalencia de eliminación que puede alcanzar una población de equinos bajo condiciones de brote de salmonelosis dentro del hospital y en segundo lugar, la prevalencia de eliminación que existe en forma endémica dentro del hospital, sin que esto esté asociado a ningún evento clínico como en el caso anterior.

Respecto a la **prevalencia de eliminación en condición de brote**, las cifras aumentan respecto a la estimada en la población general, alcanzando valores entre el 1-70% (ADDL, 2005; Traub-Dargatz, 2005; Feary y Hassel, 2006). Otros autores recopilan cifras menores, así por ejemplo, en la Universidad de California los brotes ocurridos entre 1971 y 1982 ocasionaron una prevalencia de eliminación fecal del 1,7% (Carter *et al.*, 1986). Otro ejemplo, lo constituye la Universidad del Estado de Michigan, donde se detectó una prevalencia de eliminación fecal de 5,5% entre 1996-1999 (35/638 caballos involucrados) (Ewart *et al.*, 2001). Mientras que en 1996, el Hospital de Enseñanza Veterinaria de Animales Mayores de la Universidad de Montreal en Canadá, sufrió un brote de salmonelosis, que ocasionó una prevalencia del 10,9% y una incidencia de 0,94% (Ravary *et al.*, 1999).

Sobre la **prevalencia de eliminación endémica**, el Hospital Veterinario de la Universidad de Purdue, realizó entre Octubre de 2000 y Junio de 2001 un estudio, con 956 equinos (724 admitidos y 232 hospitalizados), a los cuales se les tomaron al menos tres muestras de

deposiciones y se analizaron mediante cultivo tradicional. Los resultados mostraron que la prevalencia estimada para la eliminación fecal de *Salmonella* en pacientes admitidos fue de 0,5%, mientras que la incidencia de eliminación durante la hospitalización fue 4,3% (Ward *et al.*, 2003).

La prevalencia de eliminación fecal de *Salmonella* en caballos admitidos en hospitales veterinarios, generalmente ha sido estudiada en condiciones de brotes, sin embargo, en pacientes asintomáticos la ocurrencia de dicha eliminación es un reflejo de la infección inaparente y entrega una línea basal que permite identificar de mejor forma la presencia de brotes potenciales (Ward *et al.*, 2003).

4.4. Factores de Riesgo de Infección

Al parecer, el entorno puede verse ampliamente contaminado por heces de un caballo diarreico, situación que estaría determinada porque la bacteria se disemina sobre una extensa área que incluye las grietas de muros y puertas, los bebederos y la cama del animal. Si *Salmonella* queda en las deposiciones diarreicas, puede ser transportada por los cascos del caballo y diseminarse a otras pesebreras o caminos según el tránsito del animal, por tanto, cualquier condición que propicie lo anterior, puede considerarse como un factor de riesgo de infección (ADDL, 2005).

Respecto a esto, diversas condiciones propician la infección con *Salmonella*. Para los caballos, se sabe que la alta densidad de pacientes en hospitales les otorga cierto grado de vulnerabilidad. Se han asociado varios factores a la posibilidad de aislar la bacteria desde caballos hospitalizados, entre estos: diarrea, fiebre, cambios en la dieta, mezclas de afrecho, impactación del colon mayor, dolor cólico, retención de alimento, tratamiento con antibióticos tales como Penicilina G potásica, intubación nasogástrica y altas temperaturas ambientales. Lo importante es que muchos de estos factores, pueden desencadenar respuestas de estrés y volver al hospedero

más susceptible a la infección. Es importante reconocer que los factores de riesgo que se relacionan con la eliminación fecal de *Salmonella* no han sido claramente definidos en individuos portadores y clínicamente enfermos (Hird *et al.*, 1986; Feary y Hassel, 2006; Ekiri *et al.*, 2009).

No obstante lo anterior, un estudio desarrollado por el Hospital de Enseñanza Veterinaria de la Universidad de Davis, California entre 1993 y 1996, evaluó muestras fecales de 78 equinos que ingresaron a la unidad de cuidados intensivos (UCI) con el objeto de identificar las variables asociadas a infección nosocomial. Fueron consideradas variables propias del animal (edad y sexo), ambientales, de manejo, de hospitalización y otras enfermedades. Según el modelo propuesto, las variables que fueron asociadas significativamente con el riesgo de infección nosocomial por *Salmonella* fueron: el promedio de caballos que eliminaron *S. Krefeld* y *S. Typhimurium* en los cuatro días previos al estudio, impactación de colon mayor, número de días en que se alimentaron con afrecho, la duración del tratamiento con Penicilina G potásica y el promedio diario de temperatura ambiental (mayor riesgo a más de 27 °C). Es necesario aclarar que se consideró a *S. Krefeld* debido a que era un serotipo endémico en el hospital desde 1977, mientras que *S. Typhimurium* fue introducido al hospital en 1991 (House *et al.*, 1999).

En cuanto al dolor abdominal agudo (cólico), Palmer *et al.*, (1985), reportaron que en el 13% de los caballos admitidos en el Hospital de George D. Widener de la Universidad de Pensilvania, se aisló *Salmonella*. De ellos, ocho animales (62%) al momento de ser admitidos venían infectados con la bacteria, mientras que los cinco restantes (38%) se infectaron durante su estadía en el Hospital. Estos resultados sugieren que el síndrome cólico en los equinos favorece la eliminación del microorganismo y que puede ser considerado como un factor de riesgo más.

Traub-Dargatz (2005), afirma que el uso de sondas nasogástricas, muchas veces empleadas para aplicar medicamentos y otras sustancias que exponen al animal a desarrollar infecciones gastrointestinales, incluyendo salmonelosis, ya que compromete una barrera natural de defensa del organismo. Para este autor, surge nuevamente el síndrome cólico como uno de los

principales factores de riesgo que posibilita la eliminación fecal de *Salmonella*, pero también reconoce el valor del estrés al que se somete al caballo, entre los que destaca el transporte, la anestesia y la restricción de alimentos.

4.5. Serotipos de *Salmonella* Aislados en Equinos

Diversos trabajos han informado sobre los serogrupos y serotipos aislados en equinos, fundamentalmente en condiciones de brote intrahospitalario. En este sentido, [Palmer et al. \(1985\)](#), encontraron los siguientes serotipos en caballos hospitalizados: S. Seftenberg (56%), S. Typhimurium (25%), S. London (13%) y S. Agona (6%).

Luego, [Carter et al. \(1986\)](#), identificaron 18 serotipos, donde cinco de ellos (S. Typhimurium, S. Typhimurium var Copenhagen, S. Anatum, S. Kottbus, S. Saint-Paul) se asociaron al 84% de los casos y al 90% de la mortalidad. En el mismo año (1986), [Ikeda et al.](#), realizaron un estudio retrospectivo que pretendía caracterizar los aislados de *Salmonella* obtenidos a partir de diversas especies animales entre 1974 y 1983, en el Hospital Veterinario la Universidad Davis, California. De los equinos involucrados, se obtuvieron 318 aislados, de los cuales S. Agona representaba el 22%, S. Typhimurium el 21%, S. Krefeld 17%, S. Saint-Paul 14%, S. Typhimurium var Copenhagen 11,3%. Los serotipos S. Arizonae, S. Bornum, S. Cerro, S. Cubana, S. Give, S. Heidelberg, S. Infantis, S. Johannesburg, S. Kentucky, S. Kottbus, S. Newport, S. Oranienburg, S. Rubislaw, S. San Diego, S. Taksony, S. Tennessee, S. Thompson, S. Warthington, fueron hallados en menor proporción.

[Van Dujkeren et al. \(1994\)](#), determinaron la prevalencia y los serotipos de *Salmonella* aislados a partir de equinos admitidos en el Departamento de Medicina de la Universidad de Utrech. Obtuvieron 380 muestras fecales y en el 18% de ellas se aisló la bacteria. Los serotipos identificados fueron S. Typhimurium (62%), S. Hadar (4,3%), S. Arizona y S. Enteritidis (2,8% cada uno), S. Virchow, S. Blockley y S. Bareilly (1,4% cada uno).

El año 2000, [Traub-Dargatz et al.\(a\)](#), identificaron en las cepas aisladas de equinos a los serotipos *S. Munchen* (22%), *S. Newport* (11%), *S. Schwarzengrund*, *S. Thompson* y *S. Typhimurium* var. *Copenhagen* (8%), *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Rubislaw*, *S. Newbrunswick* y *S. Uganda* (5%). Otros serotipos en menor porcentaje fueron *S. Cerro*, *S. Mississippi* y *S. Warthington*.

Finalmente, a nivel nacional [Cepeda \(2005\)](#) identificó en su estudio dos serotipos: *S. Typhimurium* y *S. Minnesota*, provenientes ambos de caballos en condiciones de semiconfinamiento, vale decir, los animales eran estabulados por las noches y puestos en praderas durante el día.

5. DIAGNÓSTICO DE *Salmonella* spp.

5.1. Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de *Salmonella* en los caballos adultos con diarrea y síntomas clínicos sugerentes de Salmonelosis, requiere de la diferenciación de otras **causas infecciosas** de diarrea, tales como la enterocolitis producida por *Clostridium difficile*, *C. perfringens*; así como también por **parásitos** como Ciatostomas y **cuadros tóxicos** tales como diarrea asociada al uso de antibióticos como Sulfas más Trimetoprim, Eritromicina, Penicilinas, Tetraciclinas, Ceftiofur y diarrea asociada al uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), principalmente por las extensas terapias con Fenilbutazona, Flunexin Meglumine o Ketoprofeno ([Divers 2000](#); [Divers 2003](#); [Oliver y Stämpfli, 2006](#)).

Respecto a los Clostridios, es difícil establecer su causalidad en los cuadros de colitis, ya que usualmente están presentes en las deposiciones de los equinos. [Divers \(2003\)](#), sugiere que para definir a *C. perfringens* como agente etiológico es necesario hallar más de 10⁵ UFC/mL de heces fecales, signos de esporulación y presencia de la enterotoxina en las heces. Mientras que el

diagnóstico de *C. difficile* parece más sencillo y se basa principalmente en la historia clínica del paciente, caracterizándose por tener antecedentes de antibioterapia por uno a seis días previo al inicio de la diarrea, la tinción Gram revela un alto número de microorganismos, debe hallarse la toxina A, B o ambas en la muestra fecal, mediante ELISA (“enzyme-linked immunosorbent assay”) o bien la detección en la bacteria aislada del gen responsable de su producción, a través de PCR. Por último, las heces aparecen verdes o pardas y en pocos casos se observan hemorrágicas como podrían llegar a serlo por *C. perfringens* (Divers, 2003).

El diagnóstico de elección para las formas enquistadas de pequeños Estróngilos (Ciatostomas) en la pared del ciego o colon, es la biopsia de la pared. Se le debe restar valor al examen coproparasitario y la sospecha puede presentarse frente a planes de desparasitación deficientes (Divers, 2000; Divers, 2003).

La diarrea cuando se presenta asociada al uso de antimicrobianos, aparece dos a seis días después de iniciado el tratamiento y se debe al sobrecrecimiento de *C. perfringens* y *C. difficile*. A pesar de que los antimicrobianos descritos anteriormente son los más frecuentemente relacionados, cualquier otro antibiótico que sea administrado vía oral, podría ocasionar diarrea (Divers, 2000).

Frente a la sospecha de toxicidad por antiinflamatorios se deben considerar obviamente los antecedentes de terapia con AINEs, así como también las lesiones de la mucosa oral, esofágica, gástrica e intestinal, las cuales pueden ser observadas por medio de endoscopia. Usualmente la química sanguínea arroja hipoproteïnemia al inicio del cuadro, con valores de proteínas plasmáticas menores a 4,5 g/dL (Divers, 2000; Cohen, 2003).

5.2. Diagnóstico directo

Posterior al diagnóstico diferencial, el clínico que sospecha de *Salmonella* spp. como agente causal, podrá tomar diversas muestras dependiendo de la presentación del cuadro, a saber:

- **Septicemia:** principalmente en potrillos febriles con más de 39,4 °C y otros signos compatibles con el cuadro. De ser así, se sugieren muestras de sangre para hemocultivo. Para ello, se deben obtener al menos tres muestras de sangre (central y periférica) por medio de una técnica aséptica, colectando cada vez un volumen de 10-30 mL. Eventualmente, en los potrillos podrían enviarse muestras de líquido intrarticular, para realizar el aislamiento de la bacteria, cuando hay poliartritis (Hyatt y Weese, 2004; Slovis, 2007).
- **Enterocolitis** : en potrillos y caballos adultos cuyo signo cardinal fuera la diarrea, se obtendrán muestras de deposiciones o en su defecto, se usarán esponjas rectales durante varios días consecutivos (tres a cinco días), en ambos casos para realizar coprocultivo (Divers, 2000; Divers, 2003).
- **Aborto:** considerando que *S. Abortus equi* es un patógeno adaptado al huésped y que puede ser causa primaria de aborto en yeguas; también puede ser una causa secundaria, toda vez que se presente posterior a la infección por Herpes virus equino. Para su diagnóstico, se requiere la evaluación anatomopatológica de la placenta y del feto. En la primera, hay signos de placentitis necrótica, focos hemorrágicos y edema; mientras que en el segundo, hay edema subcutáneo, hemorragias petequiales subpleurales, edema pulmonar y hemorragias difusas subepicardiales y subendocardiales. Ambos exámenes deben realizarse antes de las 24 horas posteriores al aborto. El aislamiento bacteriológico entrega el diagnóstico definitivo y para ello, puede enviarse el timo, pulmón, corazón e hígado del feto, así como también otros órganos que presenten lesiones, además de la placenta (Córdova, 2006).

5.3. Diagnóstico del portador

Aunque hoy en día, los aspectos clínicos de la salmonelosis en el caballo se conocen bien, es la identificación de los casos subclínicos lo que representa un verdadero desafío para los distintos métodos diagnósticos existentes. En primer lugar, debe tenerse claro que varios métodos han sido evaluados en su capacidad de detectar la bacteria, teniendo todos distinta sensibilidad y especificidad. No obstante, el método convencional, usado con mayor frecuencia en caballos a nivel mundial corresponde al cultivo bacteriológico tradicional, mientras que el método molecular PCR (detección genómica) parece ser muy usado en Norteamérica. Lo anterior, no significa que no se conozcan otras técnicas, de hecho hoy en día se utilizan métodos inmunológicos tales como ELISA (directo e indirecto) (Hyatt y Weese, 2004; Gall *et al.*, 2006; Feary y Hassel, 2006).

Nuevamente, los caballos sospechosos de portar *Salmonella*, deben ser evaluados mediante la obtención de **deposiciones**, cuyo peso fluctúe entre los cinco y veinticinco gramos. Respecto a este tipo de muestra, surgen algunas interrogantes, tales como cuántas muestras deben evaluarse antes de considerar al animal negativo. La intermitencia de eliminación, particularmente en los caballos no diarreicos hace que una única muestra negativa a *Salmonella* no sea suficiente para declarar al animal como no infectado. Sin embargo, diversas investigaciones recopiladas, muestran como mejora el rendimiento de la prueba en la medida que se obtienen más muestras en función del tiempo. Así por ejemplo van Dujkeren *et al.* (1994), han reportado que al menos una de tres muestras de heces consecutivas, da positiva al microorganismo en el 55% de los casos. Palmer y Benson en 1984 (citado por Hyatt y Weese, 2004) observaron que una única muestra de heces sólo detecta la bacteria en un 44% de los casos, con dos muestras esto aumenta al 66%, a 82% con tres muestras y a 97% con cinco muestras.

Por lo tanto, y considerando las cifras anteriores, el estándar para muchas instituciones hoy en día, es obtener cinco muestras en días consecutivos y realizarles cultivo a todas a fin de definir el estatus sanitario respecto al patógeno. Con cinco cultivos negativos, se puede declarar al animal

libre de *Salmonella*, de acuerdo a la sensibilidad y especificidad de la técnica empleada (Hyatt y Weese, 2004; ADDL, 2005; Feary y Hassel, 2006).

Por otra parte, cuando se sospecha de portación en animales muertos, es posible enviar **tejido linfoide** asociado al tracto gastrointestinal, fundamentalmente linfonodos mesentéricos. También pueden enviarse **órganos digestivos** (o trozos de ellos) tales como pared rectal, pared de ciego, colon, íleon, bazo e hígado (Smith, 1981; Hyatt y Weese, 2004; ADDL, 2005; Feary y Hassel, 2006). Sobre esto, Smtih (1981), indica que aproximadamente el doble de caballos portadores pueden detectarse mediante cultivo bacteriológico si se usan 50 gramos de mucosa de colon o de ciego respecto a utilizar tres gramos.

5.4. Transporte de las muestras

Cuando se ha obtenido una muestra fecal, es necesario resguardar su integridad a fin de optimizar los resultados del cultivo posterior. Entre las condiciones que deben ser consideradas en la mantención de la muestra durante su transporte hacia el laboratorio, está la **temperatura**, ya que valores extremos inducen cambios en el número y viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra. Se ha visto que la temperatura apropiada para el transporte de la muestra fluctúa entre 4-24 °C. A fin de mantener una temperatura acorde, se sugiere utilizar neveras de transporte o “coolers” en cuyo interior se dispongan “ice pack” cubiertos de material absorbente a fin de evitar la congelación de los microorganismos (Hyatt y Weese, 2004).

En la actualidad, se ha diseñado el medio de transporte Cary Blair, para muestras fecales, el cual forma parte de las pautas seguidas para la obtención de deposiciones en medicina humana. Este medio de transporte semisólido, tiene un mínimo aporte de nutrientes que permite la recuperación de los microorganismos sin que haya replicación, posee además tioglicolato de sodio para proveer un bajo potencial redox y un pH relativamente alto que minimiza la destrucción bacteriana por acidificación (Anónimo, 2009).

6. CULTIVO BACTERIOLÓGICO TRADICIONAL

Este método, es sin duda alguna, el menos estandarizado entre los distintos laboratorios microbiológicos veterinarios, a diferencia de lo que ocurre en laboratorios de medicina humana o de alimentos (Hyatt y Weese, 2004).

El procesamiento de las muestras para realizar el cultivo bacteriológico, sigue en general, un esquema que consta de cuatro etapas: **primero:** pre-enriquecimiento de la muestra en medios líquidos no selectivos, **segundo:** enriquecimiento en medios selectivos, **tercero:** aislamiento bacteriano sobre medios sólidos selectivos y **cuarto:** confirmación bioquímica de la cepa estudiada.

Adicionalmente puede realizarse la detección de antígenos de superficie, mediante serología (Velilla *et al.*, 2004).

6.1. Pre - enriquecimiento no selectivo

Esta etapa ha sido destinada para muestras de origen alimentario, aunque investigaciones nacionales han hecho uso de este medio en muestras clínicas (Cepeda, 2005). El objetivo del pre-enriquecimiento, es recuperar al microorganismo que se halla en baja cantidad dado el estrés derivado del procesamiento tecnológico aplicado (ISPCH, 2009).

Se trata entonces, de medios líquidos, siendo los más comúnmente usados el Agua Peptonada, Caldo Nutritivo, Caldo Tripticasa y Caldo Lactosado. Ninguno actúa inhibiendo la flora acompañante de la muestra, sin embargo en el caso del Agua Peptonada Tamponada (pH 7.2), esta asegura la mantención del pH durante 24 horas, lo que sumado al período de incubación permite el incremento de células que son sensibles a la disminución del pH, factor muy importante en el crecimiento de *Salmonella* (Jiang *et al.*, 1998; ISPCH, 2009).

6.2. Enriquecimiento selectivo

Corresponde a un medio líquido usado en muestras con flora bacteriana mixta, tal como es el caso de heces, tejidos, muestras ambientales y también muestras de alimentos. Contienen sustancias nutritivas y diversos agentes selectivos que retardan o favorecen el crecimiento de ciertas bacterias dentro de la muestra. Este tipo de medio, es de gran utilidad en aquellas muestras que se sospecha presentan un bajo número de bacterias, tal como es el caso de los portadores (Popoff y Le Minor, 1984).

Tres son los medios más utilizados en el enriquecimiento de *Salmonella*, estos son: Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), Caldo Selenio Cistina (SC) y Caldo Tetrionato (TT). Variantes de los caldos anteriores, corresponden a SC Verde Brillante, TT Verde Brillante, TT Hajna, TT Mueller-Kauffman. Otros medios, igualmente utilizados corresponden al Caldo F Selenito, Caldo Verde Brillante y al medio semi-sólido Rappaport-Vassiliadis. Estos medios en general se incuban a temperaturas de 37-43 °C por 16-48 horas (Carter, 1984; OIE, 2004; ISPCH, 2009).

6.3. Medios selectivos sólidos

Los medios selectivos se caracterizan por estimular el desarrollo de ciertas bacterias e inhibir el desarrollo de otras (Koneman *et al.*, 1988).

Dusch y Altwegg (1995), analizaron diversos medios de cultivo para recobrar salmonelas no tíficas desde muestras de heces. Entre los medios analizados, utilizaron: agar Hektoen Entérico (HE), agar Rambach (Ra), medio SM-ID (SM), agar Xilosa-Lisina-Tergitol-4 (XLT4), agar Novobiocina-Verde Brillante-Glicerol-Lactosa (NBGL), y al medio semisólido Rappaport Vassiliadis modificado (MSRV). Las conclusiones de su trabajo fueron que MSRV lograba una mayor recuperación de *Salmonella* que los otros medios, además de presentar mejor sensibilidad y especificidad.

En resumen, se consideran buenos medios selectivos para *Salmonella* los siguientes: agar Verde Brillante, agar Xilosa - Lisina – Desoxicolato (XLD), agar Rambach, y agar Sulfito de Bismuto (OIE, 2004). [Koneman et al. \(1988\)](#), definen al agar McConkey y al agar Azul Eosina Metileno como medios selectivos diferenciales para Enterobacterias, mientras que al agar Shigella-Salmonella (SS), agar Hektoen Enterico (HE) y al agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), como medios altamente selectivos para recobrar enterobacterias.

6.4. Confirmación bioquímica

Esta confirmación está dada por las características bioquímicas que posee el género *Salmonella*, tales como: reducción de nitrato a nitrito, fermentación de D-glucosa y producción de gas, producción de H₂S en agar TSI “triple sugar iron”, no producir indol ni urea, usar citrato como única fuente de carbono, descarboxilar lisina y ornitina, no desaminar fenilalanina ni triptófano, no fermentar sucrosa, salicina, inositol, amigdalina, no producir lipasa ni desoxirribonucleasa, entre otras propiedades ([Popoff y Le Minor, 1984](#)).

En Estados Unidos, la mayoría de los laboratorios basa la confirmación de sus cepas sospechosas en “kits” comerciales que incluyen varias pruebas bioquímicas. Por ejemplo, Micro ID®, Remel, demora alrededor de cuatro horas en desarrollar la identificación, mientras que API20e®, BioMérieux y BBL Crystal E/NF ID®, Difco; pueden tardar entre 18-20 horas ([Hyatt y Weese, 2004](#)).

6.5. Serología

Muchos laboratorios hoy en día determinan el serogrupo de las cepas aisladas apoyados en la determinación hecha por Kauffman White ([Popoff y Le Minor, 1984](#)). En general, la forma de identificar el serogrupo y serotipo, es mediante una prueba de aglutinación, para lo cual se utilizan diversos antisueros comerciales.

7. IMPACTO EN SALUD PÚBLICA

El mayor impacto de *Salmonella* en salud pública, radica en que puede generar una Enfermedad Transmitida por los Alimentos (ETA), hallándose en productos tales como: carnes de vacuno, cerdo, équidos, aves, cecinas, lácteos, frutas y verduras (Anderson y Lee, 1976; OIE, 2004). Un ejemplo de esto, se observa en Estados Unidos, donde salmonelas no tíficas son la primera causa de gastroenteritis aguda de origen alimentario, reportándose 1,4 millones de enfermos al año y 600 muertes. El huevo y sus derivados, han sido identificados como una de las fuentes de infección más frecuente, de hecho en el noreste de este país, uno de cada 10.000 huevos puede estar contaminado con la bacteria. En la costa atlántica, un estudio evaluó muestras de diversos alimentos y aisló la bacteria en el 40% de la carne de vacuno, 25% de los chorizos, 13% del queso, 13% de la carne de cerdo, 4,2% de la carne de pollo y 4,2% de la arepa de huevo, siendo este último un plato preparado (Parra *et al.*, 2002).

A pesar de que la carne equina también puede contaminarse con la bacteria y que existen escasos reportes en la literatura internacional, no se ha podido definir su consumo como causa de ETA en la magnitud que se hace con los alimentos antes mencionados. Respecto a esto, en países europeos donde el consumo de esta carne es mayor, existen antecedentes que dan cuenta de la contaminación de canales equinas y del contagio de *Salmonella* mediante su consumo. Mientras que en los países latinoamericanos esta situación es diferente, ya que el nivel de consumo es menor, tendiendo más bien a exportar dicha carne, condición que se observa en los mercados desde la década de 1960 y 1970 donde hubo un extraordinario incremento de las exportaciones de productos cárnicos de équidos de países de América del Sur hacia Europa y Japón, lo que aumentó el riesgo de vehiculizar la bacteria hacia otras poblaciones humanas y animales. No obstante, desde entonces muy poca información se encuentra en la literatura respecto a la incidencia de *Salmonella* en carnes de caballo (Anderson y Lee, 1976; Hofer *et al.*, 2000).

Respecto a los reportes que muestran la efectiva contaminación de las canales con *Salmonella*, [van Schothordt y Kampelmacher \(1967\)](#), mostraron que las carcasas equinas congeladas exportadas desde Sudamérica hacia países de Europa, se hallaban contaminadas, aislándose la bacteria en el 34,7% de las muestras (278/800). Luego, [Meara en 1973 \(citado por Anderson y Lee, 1976\)](#), analizó la carne que importaba Reino Unido y halló un 42% de la carne y un 50% de despojos de caballo positivos a *Salmonella* a partir de cultivo bacteriológico. [Anderson y Lee \(1976\)](#), en Estados Unidos evaluaron 270 muestras de ciegos de caballos, 233 muestras de carne de caballos y 158 muestras de heces provenientes de empleados de una planta empacadora de carne de caballo. Como resultado, se aisló la bacteria en un 15,1% de las muestras de ciego (41/270), 26,6% de las muestras de carne (62/233) y 1% de los empleados resultó ser portador de la bacteria (2/158). [McCain y Powell \(1990\)](#), realizaron un estudio dentro de una planta faenadora, que consideró a 70 caballos clínicamente sanos, de los cuales se obtuvieron linfonodos mesentéricos para realizar el posterior aislamiento bacteriano. Los resultados de su trabajo indicaron un 71,4% de portación de la bacteria, vale decir, 50 caballos presentaron infección extraintestinal. En la década de 1980, se analizaron en Pernambuco, Brasil 19.238 fragmentos cárnicos provenientes de las porciones más externas de las carcasas de équidos (61% *Equus caballus* y 39% de *E. asinus*) aparentemente sanos y sacrificados para el consumo humano fuera del país. Como resultado, se aisló *Salmonella* en el 3,4% de las muestras (666/19.238), este porcentaje provenía de 433 équidos (260 caballos y 173 asnos). El estudio sugirió que las carnes se habrían contaminado a partir de las deposiciones de los animales sacrificados o bien, por posible contaminación ambiental, dado que los portadores humanos podrían ser una fuente de contaminación ([Hofer et al., 2000](#)).

Con los antecedentes presentados, se debe considerar que la salmonelosis es una de las zoonosis más problemáticas en salud pública, sobre todo porque son muchas las especies animales involucradas en la epidemiología de la infección, donde por cierto, el equino tiene un rol, ya que su carne es una fuente más de proteína para el ser humano. A pesar de la limitada

información disponible, se sabe que es posible aislar *Salmonella* desde la carne de caballo, aunque la incidencia podría ser baja (Hofer *et al.*, 2000; Gill, 2005).

Tal como se ha dicho, existen pocos reportes que asocian a la bacteria con el consumo de carne de caballos, dentro de estos reportes existe uno que destaca porque logra esclarecer justamente este punto. En Francia el año 2003, 14 personas fueron infectadas con cepas de *S. Newport* multiresistente, siendo esta la primera vez que este país presenta un brote de ETA a causa de este serotipo. Durante la investigación, se logró aclarar que la causa de la infección fue el consumo de carne de caballo importada contaminada con la bacteria, sin embargo no fue posible reconocer el país de origen de la misma (Espie *et al.*, 2005).

Considerando todo lo mencionado, es que toma relevancia la productividad y el consumo de la misma en Chile. Al respecto, las cifras entregadas por ODEPA para el mes de Septiembre de 2009, muestran que la producción de carne equina en vara alcanza apenas las 681 ton., esta cifra parece insustancial si se compara con valores como los que presenta la producción porcina con 42.408 ton. o la producción bovina con 29.880 ton. Por otro lado, el consumo *per cápita* anual para la carne de caballo es de 0,73 Kg., mientras que el consumo unitario (consumo de todas las carnes) es aproximadamente 82 kg., es decir, el consumo de carne equina representa apenas el 0,8% del consumo total de carnes. A pesar de que su producción y consumo sean considerablemente menores, no se debe menospreciar su impacto en salud pública, aún cuando en la literatura nacional consultada no existen antecedentes que asocien el consumo de carne de caballo con cuadros de salmonelosis en personas de Chile (ODEPA, 2009).

En resumen, el equino tiene un papel importante dentro de las ETA, ya sea a través de canales contaminadas con la bacteria que se destinan a consumo humano o bien, por el riesgo de contaminación directa entre ser humano-caballo con serotipos multiresistentes.

HIPÓTESIS

Existen equinos portadores de *Salmonella* spp. en centros ecuestres de la RM de Chile.

OBJETIVO GENERAL

Detectar la infección de *Salmonella* spp. en equinos provenientes de dos Unidades Militares de la Región Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar equinos portadores fecales de *Salmonella* spp. en dos centros ecuestres de la Región Metropolitana.
- Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

1.1. Total en estudio

Se incluyeron 200 equinos sin distinción de sexo, edad o raza, en condiciones clínicamente normales, así como también se incluyó un animal (identificado como IV-75) que presentó signología compatible con cólico por impactación. No se incluyeron animales que estuvieran recibiendo terapias con antimicrobianos.

1.2. Procedencia

De los 200 animales, 114 equinos provenían de la Unidad Militar A correspondiente al Regimiento de Artillería N° 1 Tacna y 86 de la Unidad Militar B correspondiendo esta a Escuela Militar del General Bernardo O'Higgins. Ambas Unidades, ubicadas en la Región Metropolitana. Para este estudio, se utilizaron 150 caballos Fiscales (108 animales de la Unidad A y 42 de la Unidad B) y 50 caballos Particulares (seis de la Unidad A y 44 de la Unidad B). La distinción **Fiscal** o **Particular**, fue determinada en función de la propiedad de los ejemplares.

1.3. Grupos

Con los animales de cada Unidad, se formaron grupos aleatorios de caballos, los cuales fueron designados con números romanos, como lo muestran las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Grupos de caballos de la Unidad Militar A

Unidad Militar A		
Grupo Nº	n	Número de caballos por grupo
I	20	desde el animal 1 hasta el 20
II	20	21-40
III	20	41-60
IV	20	61-80
V	20	81-100
VI	14	101-114

Tabla 2. Grupos de caballos de la Unidad Militar B

Unidad Militar B		
Grupo Nº	n	Número de caballos por grupo
VII	20	desde el animal 115 hasta el 134
VIII	20	135-154
IX	23	155-177
X	23	178-200

2. Sistema de Muestreo

2.1. Tipo de muestra y frecuencia de muestreo

Se obtuvieron muestras de heces de cada animal, siguiendo las recomendaciones de [Hyatt y Weese \(2004\)](#), es decir, una muestra diaria durante cinco días consecutivos (1^{ero}, 2^{do}, 3^{ero}, 4^{to} y 5^{to} día). La frecuencia de muestreo entre cada grupo fue la siguiente: las heces del grupo I fueron obtenidas de Lunes a Viernes y su procesamiento se realizó durante la misma semana y la siguiente. Al finalizar con el muestreo y procesamiento del primer grupo, se procedió a realizar los mismos pasos con los grupos restantes, de forma tal, que durante dos semanas, cada grupo fue evaluado en forma independiente.

2.2. Obtención de muestras



Fotografía 1

Obtención de la muestra fecal mediante manga de palpación y brete de contención.

Bajo la supervisión del Médico Veterinario de cada Unidad Militar, se obtuvieron aproximadamente 30 g de heces de cada animal. En el caso de los equinos de procedencia fiscal, la muestra fue obtenida directamente desde el recto, mientras que en los equinos de procedencia particular fue obtenida en algunos casos desde el recto y en otros desde la pesebrera, siempre y cuando la deposición fuese recién emitida.

Para la obtención de las muestras, los animales fueron dispuestos en bretes de contención (ver Fotografía 1) a fin de resguardar la integridad de los ejemplares y del personal que colaboró en el procedimiento. Para la recolección de heces a nivel del recto, se usaron mangas de palpación, guantes desechables y vaselina líquida (CentroVet ®) para facilitar el procedimiento. Es importante mencionar, que las muestras fueron obtenidas por la misma persona durante todo el estudio y que cada animal fue reconocido previamente, a fin de evitar errores de identidad. Para ello, cada caballo fue reconocido por medio de una Hoja de Filiación, que contiene sus señas particulares (color de la capa, manchas, remolinos etc.), además de un número tatuado en el flanco o bien, por medio de un sistema de detección electrónico capaz de reconocer un “chip” único que cada animal posee implantado a nivel del cuello en la masa muscular.

Las muestras de heces se colocaron en tubos Falcon estériles de 50 mL, con su respectiva identificación (grupo / N° del animal / fecha) y se transportaron dentro de una nevera manteniendo una temperatura de refrigeración (4–8 °C) con ayuda de un conservador de frío. Dentro del día, las muestras fueron llevadas para su procesamiento al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

2. Procesamiento de las muestras

Se pesaron $5,0 \pm 0,5$ g de cada muestra, utilizando para ello una balanza de precisión (Belltronic®). Esta cantidad fue transferida dentro de una bolsa plástica estéril (Nasco WHIRL-PAK®) identificada con el número del grupo, número del caballo y fecha de la muestra (véase Fotografía 2). Para el aislamiento e identificación bacteriana se siguieron las pautas descritas por [Murray y Barton, \(1993\)](#) para muestras no alimentarias.



Fotografía 2

Identificación de la muestra pesada con los datos del caballo.

3.1. Aislamiento bacteriano



Fotografía 3
Adición del medio caldo Tetrionato a la muestra.

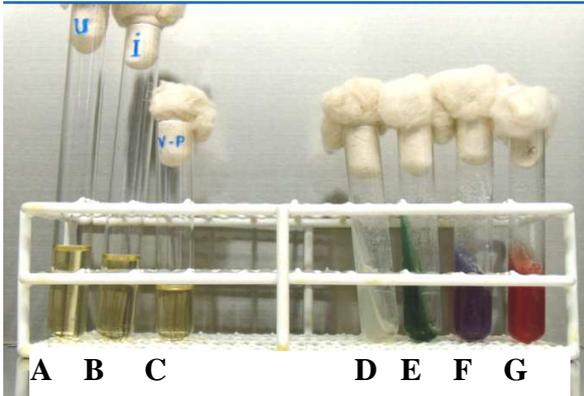
Medio de Enriquecimiento: a la bolsa con los 5 g de heces, se le adicionó el medio de enriquecimiento Caldo Tetrionato (Difco®) en razón de 1:10, al cual previamente se le añadió 2 mL de solución yodo yodurada por cada 100 mL de caldo. El contenido de la bolsa fue homogeneizado suavemente, para luego ser llevado a la estufa a 37 °C por 72 horas (véase Fotografía 3). A las 48 y 72 horas de incubación, se procedió a sembrar en un medio selectivo.



Fotografía 4
Siembra en medio agar XLD mediante método de reloj.

Medio Selectivo: se utilizó para este fin, placas de Agar XLD (Difco®), las que fueron sembradas con cinco asas del caldo Tetrionato incubado a 48 horas. Las placas sembradas, se incubaron a 42 °C por 24 horas (ver Fotografía 4). Toda muestra negativa con el caldo de 48 horas fue sembrada nuevamente a partir del caldo con 72 horas de incubación. Cuando los cultivos de 48 y 72 horas fueron negativos, la muestra para ese día fue considerada negativa.

3.2. Identificación bacteriana

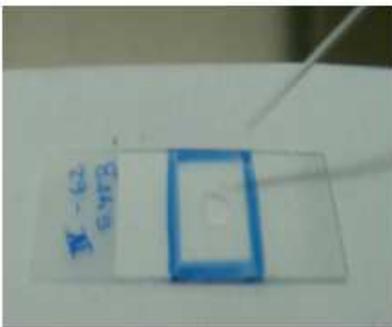


Fotografía 5

Bateria corta de pruebas bioquímicas. Tubos A, B y C corresponden a medios líquidos (A: Prueba de Urea, B: Prueba de Indol, C: Voges-Proskauer). Tubos D, E, F y G corresponden a medios sólidos (D: agar Fenilalanina, E: agar Citrato de Simmons, F: agar LIA y G: agar TSI).

De cada placa de agar XLD, se seleccionaron como máximo 10 colonias sospechosas (centro negro y borde transparente) y se les sometió a una batería corta de pruebas bioquímicas: desaminación de fenilalanina en Agar Fenilalanina (Difco®), fermentación de azúcares y producción de ácido sulfhídrico en medio Kligler o TSI (Difco®), desaminación de lisina en medio LIA (Difco®), crecimiento en Agar Citrato de Simmons (Difco®), hidrólisis de urea en Caldo Urea, producción de indol a partir de triptófano (Prueba de Indol) y prueba Rojo de Metilo (ver Fotografía 5). Toda colonia con bioquímica coincidente será confirmada con el Kit BBL crystal para entéricos no fermentadores (Becton y Dickinson®).

3.3. Serología



Fotografía 6

Prueba de aglutinación en portaobjeto.

A todas las colonias con bioquímica coincidente con *Salmonella* se les realizó una prueba de aglutinación (ver Fotografía 6). Sobre la superficie de un portaobjeto, limpio, seco y desengrasado, se homogenizó una gota de suero fisiológico estéril con el cultivo bacteriano para observar la posibilidad de autoaglutinación, de no ocurrir esto, se le aplicó una gota del suero polivalente A-I y Vi (Difco®) y se homogeneizó nuevamente. La interpretación de la prueba de aglutinación se realizó máximo a los dos minutos.

4. Susceptibilidad Antimicrobiana

Esta técnica, considero el método de difusión de Kirby Bauer, siguiendo las recomendaciones del “National Committee for Clinical Laboratory Standards” ([NCCLS, 2002](#)). Las cepas en estudio y la cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922 se siembran en caldo común e incuban a 37 °C por 18-24 horas, tras lo cual, la turbidez de las suspensiones se ajusta mediante la adición de suero fisiológico estéril hasta conseguir el equivalente al tubo N° 0,5 del nefelómetro de Mc Farland. Una vez ajustadas, se siembran en placas de agar Müller Hinton II (Difco®), utilizando una tórula de algodón estéril. Posteriormente, se llevan a la estufa a 37 °C para secar, y finalmente se colocan equidistantes entre sí, sensidiscos impregnados con los siguientes antimicrobianos: Enrofloxacino (Arlab® 15 ug), Ampicilina (Arlab® 10 ug), Gentamicina (Arlab® 10ug), Sulfametoxazol / Trimetoprim (Arlab® 25ug), Cefradina (Arlab® 30ug), Cefoxitina (Arlab® 30ug), Cefotaxima (Arlab® 30ug) y Cloramfenicol (Arlab® 30ug). Las placas se incuban a 37 °C por 18 a 24 horas para luego realizar la lectura de la prueba.

Usando un vernier de precisión se realiza la lectura del diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm., interpretándose como Sensible (S), de Sensibilidad Intermedia (I) o Resistente (R), según los puntos de corte establecidos por el [NCCLS \(2002\)](#).

5. Bioseguridad

Para la seguridad de las personas relacionadas con la obtención de muestras, los caballos fueron dispuestos en bretes de contención, procedimiento a cargo del Médico Veterinario de cada Unidad Militar. Durante el procesamiento de las muestras, en el Laboratorio de Microbiología, se siguieron las Normas de Bioseguridad correspondientes al Nivel 2 para *Salmonella* no tífica, esto es, uso de delantal, guantes, mechero y desinfectantes ([CDC, 1999](#)).

RESULTADOS

Durante la experiencia y mediante la metodología utilizada, no se detectaron portadores fecales de *Salmonella* spp. en los doscientos equinos evaluados, durante los cinco días consecutivos que consideraba el muestreo seriado.

Tampoco se aisló *Salmonella* spp. del único ejemplar (**IV-75**) que presentó un factor de riesgo de eliminación (cólico por impactación) al momento de la obtención de sus cinco muestras.

DISCUSIÓN

A través del muestreo seriado durante cinco días consecutivos, no se detectaron portadores fecales de *Salmonella* en los doscientos caballos analizados en las dos Unidades Militares de la Región Metropolitana. Este resultado, concuerda con lo reportado por [Cepeda \(2005\)](#), para equinos de la Escuela de Caballería Blindada de Quillota y la Escuela de Equitación de Carabineros, mantenidos en condiciones de confinamiento permanente, donde tampoco se hallaron portadores de la bacteria.

El no aislamiento de la bacteria en las dos unidades militares analizadas, podría deberse a las condiciones epidemiológicas de los equinos estudiados y/o a factores metodológicos. El que se trate de animales clínicamente sanos y con escasa exposición a factores de riesgo tales como diarrea, fiebre, cambios en la dieta y en los piensos, impactación de colon mayor, cuadros cólicos, terapias con determinados antimicrobianos, alta temperatura ambiental; hace que se dificulte la posibilidad de adquirir la bacteria y por lo tanto de portarla a nivel digestivo ([Palmer et al., 1985](#); [Hird et al., 1986](#); [Feary y Hassel, 2006](#); [Ekiri et al., 2009](#)). Por otra parte, el alto grado de confinamiento en que se hallan, también disminuye la probabilidad de infección a partir del contacto con otros huéspedes tales como roedores, aves silvestres, bovinos, cánidos o bien a partir del consumo de agua o pastos contaminados por diversas rutas; adicionalmente en el entorno de ambas unidades son frecuentes las acciones orientadas al control de roedores y otras plagas ([Acuña, 2009¹](#); [Landro, 2009²](#); [Núñez, 2009³](#)).

¹ **Acuña, Mario.** 2009. [Comunicación Personal] Médico Veterinario. Teniente Coronel (OSV). Asesor Veterinario División Logística del Ejército de Chile.

² **Landro, Cristián.** 2009. [Comunicación Personal] Médico Veterinario. Mayor (OSV). Comandante de la Sección Veterinaria de Escuela Militar Bernardo O'Higgins.

³ **Núñez, Iván.** 2009. [Comunicación Personal] Médico Veterinario. Mayor (OSV). Comandante de la Sección Veterinaria del Regimiento de Artillería Nº 1 Tacna.

En forma específica, los caballos de ambas unidades son alojados en pesebreras individuales y en general no existe intercambio de ellas, este hecho sumado a que no existe un área de hospitalización como tal, evita que un animal infectado con una bacteria la pueda diseminar en otras áreas de alojamiento que podrían ser eventualmente utilizadas durante la hospitalización de cualquier ejemplar.

Como parte del manejo ambiental se consideran periódicas acciones de higienización por parte de la respectiva sección veterinaria que son coordinadas por un Médico Veterinario, el cual también vela por las características de inocuidad de los alimentos administrados y el origen de los mismos (Acuña, 2010¹).

Un factor epidemiológico a considerar es el tipo de alimentación que recibe el caballo, ya que en general su ración está basada en la administración de pastos frescos, henos y granos; a diferencia de lo que ocurre con otras especies como el cerdo y las aves de corral que son alimentados con productos de origen animal, los cuales de acuerdo a la literatura revisada han sido reportados como fuentes de contaminación de *Salmonella* (Vial, 1983; Isequilla *et al.*, 1988; Sanhueza, 2003). Al respecto Sanhueza (2003), trabajó con 187 cepas de *Salmonella* spp. aisladas entre Junio de 1998 y Abril del 2002 a partir de harinas de origen animal procedentes de distintos países de Latinoamérica, donde 75 cepas correspondieron a aislados de harina de plumas, 62 a harina de carne y hueso, 22 a harina de pescado, 17 a harina de vísceras de pollo y 11 a harina de sangre. En Sudamérica, en particular en Argentina, una investigación evaluó el nivel de contaminación con el patógeno en harinas de carne y hueso, encontrándose un 69% de los lotes positivos a la bacteria (Isequilla *et al.*, 1988). A nivel nacional, existen informes que dan cuenta del nivel de contaminación en harina de pescado, alcanzando este el 10%, mientras que en harina de subproductos de mataderos de aves, llega al 17% (Vial, 1983).

¹ Acuña, Mario. 2010. [Comunicación Personal] Médico Veterinario. Teniente Coronel (OSV). Asesor Veterinario División Logística del Ejército de Chile.

Dicho esto, queda claro que la falta de aislamiento de *Salmonella* puede deberse a factores epidemiológicos y al manejo ambiental presente en ambos centros ecuestres. Pese a lo anterior, se debe considerar que la metodología planteada pudiera eventualmente afectar los resultados, sobre todo lo que respecta al peso de la muestra fecal y el método de cultivo.

En cuanto al peso de la muestra fecal obtenida para el análisis bacteriológico, la literatura consultada indica que este puede variar entre 5 – 30 gramos (Palmer *et al.*, 1985; House *et al.*, 1991; Ward *et al.*, 2003; Hyatt y Wesse, 2004). A pesar de esto, Ikeda *et al.* (1986), Traub-Dargatz *et al.* (2000a) y Ekiri *et al.* (2009), utilizaron un peso inferior a este rango, de apenas uno o dos gramos logrando aún así aislar la bacteria. En el caso particular de Ikeda *et al.* (1986), es probable que la detección de *Salmonella* en la escasa cantidad de muestra analizada se deba a la exclusiva evaluación de caballos con sospecha de salmonelosis clínica por un período de nueve años; mientras que en el trabajo realizado por Traub-Dargatz *et al.* (2000a) se deba al elevado número de equinos analizados (8.417) y a las diversas condiciones sanitarias que presentaron cada uno de ellos. Por otra parte Ekiri *et al.* (2009), expusieron en forma experimental a caballos a un ambiente contaminado con la bacteria a fin de identificar factores de riesgo de infección nosocomial, lo que habría aumentado la posibilidad de pesquisarla en una pequeña cantidad de deposiciones. Otro grupo de investigaciones, entre ellas la reportada por Ward *et al.* (2003), hallaron una prevalencia de 0,5% en caballos admitidos en un hospital veterinario utilizando 10 gramos de heces y Palmer *et al.* (1985), encontraron una prevalencia de eliminación del 13% en caballos con sospecha de salmonelosis clínica usando entre 15-30 gramos. House *et al.* (1991), utilizaron el mismo peso que la presente investigación, es decir cinco gramos e identificaron 4,9% de los equinos en su estudio, aunque habría que considerar que nuevamente se trata de caballos con sospecha de salmonelosis. Por lo expuesto, el peso utilizado en esta investigación parecería adecuado y dentro del rango recomendado, no obstante es lógico pensar que en la medida que se utilicen muestras de mayor peso se aumente la probabilidad de aislamiento. Es dable mencionar, que la selección del peso de la muestra utilizada en este estudio, obedeció en parte a condiciones económicas y operativas.

Otro factor a considerar, es la metodología de cultivo empleada. En primer lugar, esta investigación no consideró el uso de pre-enriquecimiento con agua peptonada tamponada, debido a que se planteó seguir las pautas establecidas por [Murray y Barton \(1993\)](#), para muestras clínicas. Dentro de la literatura consultada referente a portación fecal de *Salmonella* spp. en equinos, sólo un trabajo consideró el uso de pre-enriquecimiento para las muestras, no obstante, obtuvieron los mismos resultados que la presente investigación en la población de caballos confinados ([Cepeda, 2005](#)). La mayoría de los estudios utilizan la metodología de aislamiento para muestras clínicas, incluyendo el uso de algún medio de enriquecimiento ([Palmer et al., 1985](#); [House et al., 1991](#); [van Duijkeren et al., 1994](#); [Traub-Dargatz et al., 2000b](#); [Ewart et al., 2001](#); [Ward et al., 2003](#); [Ekiri et al., 2009](#)). Los medios de pre-enriquecimiento en cambio, han sido sujetos a muestras de origen alimentario ([Anderson y Lee, 1976](#); [Hofer et al., 2000](#)).

En esta investigación, se utilizó como medio de enriquecimiento Caldo Tetrionato, aún cuando este medio es capaz de inhibir el crecimiento de serotipos tales como *S. Choleraesuis* y *S. Typhisuis* ([Carter, 1984](#)). De acuerdo a lo informado, ninguno de los dos serotipos en cuestión es de relevancia en el equino, a diferencia de lo que ocurre en el cerdo donde estos se encuentran en una proporción considerable ([Ikeda et al., 1986](#); [Zhao et al. 2007](#)).

Dado que la mayoría de las Enterobacterias son mesófilas, es decir, crecen a temperaturas entre 20 y 40 °C ([Popoff y Le Minor, 1984](#)), es que este estudio planteó el empleo de un método disgenésico térmico, como es la incubación de las placas de agar a 42 °C, a fin de inhibir el excesivo crecimiento de la flora microbiana presente. En forma particular, este método logró disminuir el crecimiento del género *Proteus*, cuyas colonias se parecen tanto en morfología como en características bioquímicas a las colonias de *Salmonella*.

En cuanto al número de colonias sospechosas que se estudiaron mediante confirmación bioquímica, escasas investigaciones dan información al respecto, sin embargo este estudio se planteó analizar un máximo de 10 colonias sospechosas por placa, con el objeto de aumentar la

probabilidad de aislar e identificar colonias de *Salmonella*. Este número de colonias parece apropiado comparado con las tres o cinco analizadas por Ikeda *et al.*, 1986 y Hofer *et al.*, 2000. En investigaciones nacionales de búsqueda activa de *Salmonella* en otras especies animales portadoras, esta cantidad de colonias ha demostrado ser adecuada (Sobarzo, 2005; Peñaloza, 2008; Torres, 2008).

Diversos trabajos (Albala, 2007; Carvajal, 2007; Santibáñez, 2008; Hauva, 2009; Quiroga, 2009) realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, confirmaron a través de PCR la ausencia de *Salmonella* en muestras cuyo cultivo tradicional resultó negativo a la bacteria, confirmando que la metodología propuesta otorga una buena sensibilidad y que por lo tanto es óptima en la búsqueda del microorganismo (Borie, 2010¹).

Dado que en esta investigación, no se aisló *Salmonella* a partir de ninguna de las muestras obtenidas de cada animal, se puede inferir entonces, la ausencia de portadores fecales de *Salmonella* en las dos Unidades Militares evaluadas. Aún cuando los resultados sean positivos desde este punto de vista, es importante sugerir la evaluación de algunas situaciones que podrían llevar a perder este estatus. Tal como es el caso de un grupo de equinos de la Unidad Militar A, quienes son llevados a praderas durante medio día, en las cuales coexisten con bovinos cuya condición sanitaria puntual frente a *Salmonella*, es desconocida. Respecto a este punto, Peñaloza (2008), reportó la presencia de *Salmonella* en seis muestras de un total de 630 (0,95%) bovinos provenientes de las regiones V y Metropolitana, hecho que permite inferir que esta especie animal podría transmitir la bacteria a otros animales susceptibles.

¹ Borie, Consuelo. 2010. [Comunicación Personal] Médico Veterinario. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

A pesar de contar con medidas de control de plagas, es complejo el control de aves silvestre y palomas, ya que sobre ellas no existe ninguna medida de control eficaz. Al respecto, [Toro et al. \(1999\)](#), encontraron un 3% de palomas portadoras de *Salmonella* en la ciudad de Santiago, mientras que [González-Acuña et al. \(2007\)](#), hallaron una portación del 4% en las mismas aves en la ciudad de Chillán. Ambos trabajos corroboran el posible rol de estas aves como fuentes de infección.

A modo de sugerencia y, considerando el impacto en salud pública que representan las infecciones con *Salmonella*, es que investigaciones futuras podrían identificar el estado de portador asintomático a nivel de plantas faenadoras de equinos destinados a consumo humano, ya que en la literatura nacional no existen antecedentes de estudios sobre contaminación a este nivel.

Finalmente, es posible concluir que ninguno de los 200 equinos provenientes del Regimiento de Artillería N° 1 Tacna y de Escuela Militar del General Bernardo O'Higgins, son considerados portadores fecales de *Salmonella*, condición que se debe fundamentalmente al tipo de confinamiento que presentan y a los manejos ambientales que se desarrollan en cada unidad militar y que por lo tanto, no representan un peligro sanitario para el personal militar que se relaciona con ellos, así como tampoco para la comunidad civil que dispone de los mismos a través de diversa actividades, tales como equitación o hipoterapia.

CONCLUSIÓN

Los 200 equinos provenientes del Regimiento de Artillería N° 1 Tacna y de Escuela Militar del General Bernardo O'Higgins, NO son portadores fecales de *Salmonella* spp.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **ALBALA, I.** 2007. Biocontrol de *Salmonella* Enteritidis en aves mediante el uso de bacteriófagos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 55 p.
2. **ADDL. ANIMAL DISEASE DIAGNOSTIC LABORATORY.** 2005. Enteric Salmonellosis in horses. [en línea]. <<http://www.addl.purdue.edu/newsletters/2005/winter/equine-es.htm>> [consulta: 11-06-2009].
3. **ANDERSON, G.; LEE, D.** 1976. *Salmonella* in horses: a source of contamination of horsemeat in a packing plant under federal inspection. Applied and Environmental Microbiology. 31(5): 661-663.
4. **ANÓNIMO.** 2009. Norma toma de muestras microbiológicas. [en línea]. <http://www.hsalmador.cl/documentos/Toma_Muestra_HDS_2009.pdf> [consulta: 08-11-2009].
5. **CARTER, G.** 1984. Enterobacteria. *In:* Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 4th Edition. C. Thomas Publisher. Illinois, USA. pp. 92-110.
6. **CARTER, J.; HIRD, D.; FARVER, T.; HJERPE, C.** 1986. Salmonellosis in hospitalized horses: seasonality and case fatality rates. The Journal of American Veterinary Medical Association. 18(2):163-167.

7. **CARVAJAL, P. 2007.** Reducción de la colonización de *Salmonella* Enteritidis en pollos comerciales tratados con bacteriófagos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 75 p.
8. **CEPEDA, J. 2005.** Contribución al estudio de Salmonelosis Equina. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Santo Tomás. 43 p.
9. **CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1999.** Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. U.S. Department of Health and Human Services and National Institutes of Health. 4th Edition. US Government Printing Office. Washington, USA. 265 p.
10. **CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2003.** Salmonellosis. [en línea]. <www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salmonellosis_t.htm> [consulta: 26-11-2009].
11. **COHEN, N. 2003.** Toxicidad de los antiinflamatorios no esteroides. **In:** Mair, T.; Divers, T.; Ducharme, N. (Eds.). Manual de Gastroenterología Equina. Inter-médica. Buenos Aires, Argentina. pp: 486-488.
12. **CÓRDOVA, A. 2006.** Factores relacionados con el aborto en yeguas. [en línea] <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html>> [consulta: 10-11-2009].

13. **DARGATZ, D.; TRAUB-DARGATZ, J.** 2004. Multidrug-resistant *Salmonella* and nosocomial infections. *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 20(3): 587-600.
14. **DIVERS, T.** 2000. Enfermedades que cursan con diarrea en el adulto. *In: Manual de Urgencias en la Clínica Equina, Tratamientos y Técnicas*. Elsevier. Madrid, España. 745 p.
15. **DIVERS, T.** 2003. Salmonelosis. *In: Manual de Gastroenterología Equina*. Inter-médica. Buenos Aires, Argentina. pp: 475-479.
16. **DUSCH, H.; ALTWEGG, M.** 1995. Evaluation of five new plating media for isolation of *Salmonella* species. *Journal of Clinical Microbiology*. 33(4): 802–804.
17. **DWYER, R.** 2001. Control and prevention of foal diarrhea outbreaks. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2001/91010100472.pdf>> [consulta:10-11-2009].
18. **EKIRI, A.; MACKEY, R.; GASKIN, J.; FREEMAN, D.; HOUSE, A.; GIGUÈRE, S.; TROEDSSON, M.; SCHUMAN, C.; VON CHAMIER, M.; HENRY, K.; HERNÁNDEZ, J.** 2009. Epidemiologic analysis of nosocomial *Salmonella* infections in hospitalized horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 234(1):108-119.
19. **ESPIÉ, E.; DE VALK, H.; VAILLANT, V.; QUELQUEJEU, N.; LE QUERREC, F.; WEILL, F.** 2005. An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections linked to the consumption of imported horse meat in France. *Epidemiology and Infection*. 133(2): 373-376.

20. **EWART, S.; SCHOTT H.; ROBINSON, R.; DWYER, R.; EBERHART, S.; WALKER, R.** 2001. Identification of sources of *Salmonella* organisms in a veterinary teaching hospital and evaluation of the effects of disinfectants on detection of *Salmonella* organisms on surface materials. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 218(7): 1145-1151.
21. **FEARY, D.; HASSEL, D.** 2006. Enteritis and colitis in horses. *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 22(2): 437-479.
22. **FIGUEROA, I.; VERDUGO, A.** 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. [en línea]. <http://www.medigraphic.com/espanol/e-htms/e-lamicro/e-mi2005/e-mi05-1_2/em-mi05-1_2e.htm> [consulta: 29-09-2009].
23. **GALL, D.; NIELSEN, K.; BERMUDEZ, R.; MUÑOZ DEL REAL, M.; HALBERT, G.; GROULX, R.; MORENO, F.; CHOW, E.; CHECKLEY, S.** 2006. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detecting serum antibodies to the lipopolysaccharide of *Salmonella Abortusequi*. *Research in Veterinary Science*. 81(2): 215-217.
24. **GILL, C.** 2005. Safety and storage stability of horse meat for human consumption. *Meat Science*. 71(3): 506-513.
25. **GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; SILVA, F.; MORENO, L.; CERDA, F.; DONOSO, S.; CABELLO, J.; LÓPEZ, J.** 2007. Detección de algunos agentes zoonóticos en la paloma doméstica (*Columba livia*) en la ciudad de Chillán, Chile. [en línea] <<http://www.scielo.cl/pdf/rci/v24n3/art04.pdf>> [consulta: 06-12-2009].

26. **HAUVA, C.** 2009. Bacteriófagos: profilaxis en gallinas comerciales de postura infectadas experimentalmente con *Salmonella* Enteritidis. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 58 p.
27. **HIRD, D.; CASEBOLT, D.; CARTER, J.; PAPPALIOANOU, M.; HJERPE, C.** 1986. Risk factors for salmonellosis in hospitalized horses. Journal of the American Veterinary Medical Association. 188(2):173-177.
28. **HOUSE, J.; MAINAR-JAIME, R.; SMITH, B.; HOUSE, A.; KAMIYA, D.** 1999. Risk factors for nosocomial *Salmonella* infection among hospitalized horses. Journal of American Veterinary Medical Association. 214(10): 1511-1516.
29. **HOFER, E.; RODRIGUEZ, M.; EMERY, A.; CAMELO, A.; LINS, H.; DIDIER, J.; DIDIER, D.; DA SILVA, S.** 2000. Sorovares de *Salmonella* em carne de eqüídeos abatidos no nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira. 20(2): 80-84.
30. **HYATT, D.; WEESE, J.** 2004. *Salmonella* culture: sampling procedures and laboratory techniques. The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 20(3): 577-585.
31. **IKEDA, J.; HIRSH, D.; JANG, S.; BIBERSTEIN, E.** 1986. Characteristic of *Salmonella* isolated from animals at a veterinary medical teaching hospital. The American Journal Veterinary Research. 47(2): 232-235.
32. **ISEQUILLA, P.; LASTA, J.; MICHANIE, S.; QUEVEDO, F.** 1988. Nivel de contaminación con *Salmonella* en harinas de carne y hueso, comparación de métodos

- y propuesta de muestreo. Revista de Medicina Veterinaria Buenos Aires. 69(4): 194-200.
33. **ISPCH. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE.** 2009. *Salmonella*. [en línea]. <http://www.ispch.cl/lab_amb/serv_lab/salmonella.html#trece> [consulta: 20-06-2009].
34. **JIANG, J.; LARKIN, C.; STEELE, M.; POPPE, C.; ODUMERU, A.** 1998. Evaluation of universal preenrichment broth for recovery of foodborne pathogens from milk and cheese. Journal of Dairy Science. 81(11): 2798-2803.
35. **KONEMAN, E.; ALLEN, S.; DOWELL, V.; JANDA, W.; SOMMERS, H.; WINN, W.** 1988. The *Enterobacteriaceae*. *In*: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd Edithion. J.B. Lippincot Company. Philadelphia, USA. pp: 89-157.
36. **McCAIN, C.; POWELL, K.** 1990. Asymptomatic salmonellosis in healthy adult horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2(3): 236-237.
37. **McCLURE, M.** 1995. Cuidado general de la salud y patologías varias del equino de carrera. *In*: Goodman, N. (Ed.). Clínicas Veterinarias de Norteamérica, Práctica Equina. Vol VI. Nº 1. Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp: 293-295.
38. **MURRAY, C.; BARTON, M.** 1993. Salmonellosis bacteriology. *In*: Corner, L.; Baugust, T. (Eds). Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases. Australia pp: 3 – 8.

39. **NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS.** 2002. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. 2nd Edithion: approved standard M31-A2. USA. 32 p.
40. **ODEPA. OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS.** 2009. Estadísticas pecuarias detalladas por especie o categoría: beneficio de equinos. [en línea]. <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/jsp/sesa/sesa_eBnf_EC.jsp> [consulta:20-11-2009].
41. **OHL, M.; MILLER, S.** 2001. SALMONELLA: A model for bacterial pathogenesis. Annual Review of Medicine. 52: 259-274.
42. **OIE. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL.** 2004. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Cap. 2.10.0. Salmonellosis. [en línea]. <http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00129.htm> [consulta: 02-04-2009].
43. **OLIVER, O.; STÄMPFLI, H.** 2006. Acute diarrhea in the adult horse: case example and review. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 22(1): 73-84.
44. **OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 1988. Control de la salmonelosis: importancia de la higiene veterinaria y de los productos de origen animal. Informe de comité de expertos. Ginebra, Suiza. 96 p.
45. **PALMER, J.; BENSON, C.; WHITLOCK, R.** 1985. *Salmonella* shed by horses with colic. Journal of American Veterinary Medical Association. 187(3): 256-257.

46. **PARRA, M.; DURANGO, J.; MÁTTAR, S.** 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. Journal MVZ-Córdoba. 7(2): 187-200.
47. **PEÑALOZA, C.** 2008. Resistencia antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de bovinos de las Regiones V, Metropolitana y X. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 50 p.
48. **POPOFF, M.; LE MINOR, L.** 1984. Genus XXXIII. *Salmonella*. **In:** Brenner, D.; Krieg, N.; Stanley, J. (Eds.). Bergey`s Manual of Sistematic Bacteriology. Vol II. Williams and Wilkings. Baltimore, USA. pp: 764-799.
49. **QUIROGA, J.** 2009. Fagoterapia preventiva como biocontrol de *Salmonella* Enteritidis en gallinas de postura experimentalmente infectadas. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 81 p.
50. **RAVARY, B.; FECTEN, G.; HIGGINS, R.; PARÉ, J.; LAVOIE, J.P.** 1999. Mesures de Contrôle des maladies entériques contagieuses dans un hôpital vétérinaire d`enseignement. The Canadian Veterinary Journal. 40(12): 871-877.
51. **RHOADS, W.; BARTON, M.; PARKS, A.** 1997. Small colon impactions in horses: 84 cases (1986-1996). [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/1997/Rhoads.pdf>> [consulta: 29-09-2009].

52. **SANCHEZ, M.; CARDONA, N.** 2003. Mecanismos de interacción de *Salmonella* con la mucosa intestinal. Infectio Revista de la Asociación Colombiana de Infectología. 7(1): 22-29.
53. **SANHUEZA, J.** 2003. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de harinas de origen animal importadas. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 54p
54. **SANTIBÁÑEZ, F.** 2008. Probióticos y bacteriófagos como biocontroladores de la colonización de *Salmonella* Enteritidis en pollos experimentalmente infectados. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 80 p.
55. **SLOVIS, N.** 2007. My horse has *Salmonella* – Now What?. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/LA/080.asp?LA=1>> [consulta: 12-03-2009].
56. **SMITH, B.** 1981. Equine salmonellosis: A contemporary view. The Equine Veterinary Journal. 13(3): 147-151.
57. **SOBARZO, G.** 2005. Detección y sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. de reptiles y aves exóticas en cautiverio. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 40 p.

58. **SPC- SECRETARIAT OF THE PACIFIC COMMUNITY.** 2009. C754 – Salmonellosis (*S. Abortusequi*) [en línea].
<<http://www.spc.int/rahs/Manual/Equine/SALOMNELLOSISE.htm>> [consulta: 29-09-2009].
59. **TRAUB-DARGATZ, J.; GARBER, L.; FEDORKA-CRAY, P.** 2000a. A national estimate of the prevalence of *Salmonella* fecal shedding by horses in the U.S. [en línea]. <www.ivis.org/proceedings/AAEP/2000/284.pdf> [consulta: 22-03-2009].
60. **TRAUB-DARGATZ, J.; GARBER, L.; FEDORKA-CRAY, P.; LADELY, S.; FERRIS, E.** 2000b. Fecal shedding of *Salmonella* spp. by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of *Salmonella* spp. in grain and concentrate sources on equine operations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 217(2): 226-230.
61. **TRAUB-DARGATZ, J.; DARGATZ, D.; MORLEY, P.** 2002. Antimicrobial resistance: what's the big deal? Importance of antimicrobial resistance to the equine practitioner. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2002/910102000138.PDF>> [consulta: 05-10-2009].
62. **TRAUB-DARGATZ, J.** 2005. What to do when you are in the pooh. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/LA/122.pdf?LA=1>> [consulta: 02-10-2009].
63. **TORO, H.; SAUCEDO, C.; BORIE, C.; GOUGH, R.; ALCAÍNO, H.** 1999. Health status of free living pigeons in the city of Santiago. *Avian Pathology*. 28(6): 619-623.

64. **TORRES, M.** 2008. Aislamiento y sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella* spp. en cerdos provenientes de planteles animales bajo certificación oficial faenados en la Región Metropolitana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 54 p.
65. **VAN DUIJKEREN, E.; VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, S.; HOUWERS, D.; VAN LEEUWEN, W.; KALSBECK, H.** 1994. Equine salmonellosis in a Dutch veterinary teaching hospital. *Veterinary Record*. 135(11): 248-250.
66. **VAN SCHORTHORST, M.; KAMPELMACHER, E.** 1967. *Salmonella* in meat imported from southamerican countries. *The Journal of Hygiene*. 65(3): 321-325.
67. **VELILLA, A.; HORACIO, T.; FEINGOLD, S.** 2004. Avances en el diagnóstico molecular de *Salmonella* PCR aplicada a la avicultura y a la microbiología de los alimentos. [en línea].
<<http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/otras/aves/salmonella.htm>
> [consulta: 05-10-2009].
68. **VIAL, F.** 1983. Investigación del género *Salmonella* en harina de pescado, harina de subproductos de matadero de aves y alimentos completos para aves en dos planteles avícolas chilenos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 33p.

69. **VO, A.; DUIJKEREN, E.; FLUIT, A.; GAASTRA, W.** 2007. A novel *Salmonella* genomic island 1 and rare integron types in *Salmonella* Typhimurium isolates from horses in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 59(4): 594-599.
70. **WARD, M.; ALINOVI, C.; COÛETIL, L.; WU, C.** 2003. Fecal shedding of *Salmonella* in horses admitted to a Veterinary Teaching Hospital. *Journal of Equine Veterinary Science*. 23(9): 403-407.
71. **WARD, M.; ALINOVI, C.; COÛETIL, L.; WU, C.** 2005a. Evaluation of a PCR to detect *Salmonella* in fecal samples of horses admitted to a veterinary teaching hospital. *Journal Veterinary Diagnosis Investigation*. 17(2): 118-123.
72. **WARD, M.; BRADY, T.; COÛETIL, L.; LILJEBJELKE, K.; MAURER, J.; WU, C.** 2005b. Investigation and control of an outbreak of salmonellosis caused by multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium in a population of hospitalized horses. *Veterinary Microbiology*. 107 (3-4): 233-240.
73. **WARWICK, C.; LAMBIRIS, A.; WESTWOOD, D.; STEEDMAN, C.** 2001. Reptile-related salmonellosis. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 94(3): 124-126.
74. **WEESE, J.** 2002. A review of equine zoonotic diseases: Risk in veterinary medicine. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2002/910102000362.PDF>> [consulta: 22-03-2009].

75. **WEESE, S.** 2008. *Salmonella* kills at least 22 horses in outbreak in Iceland. [en línea]. <<http://www.equidblog.com/2008/12/articles/another-category/test-subcategory/salmonella-kills-at-least-22-horses-in-outbreak-in-iceland/>> [consulta: 04-10-2009].
76. **ZHAO, S.; McDERMOTT P.; WHITE D.; QAIYUMI, S.; FRIEDMAN, S.; ABBOTT, J.; GLENN, A.; AYERS, S.; POST, K.; FALES, W.; WILSON, R.; REGGIARDO, C.; WALKER, R.** 2007. Characterization of multidrug resistant *Salmonella* recovered from diseased animals. *Veterinary Microbiology*. 123(1-3): 122-132.

Anexo 1

Carta enviada por la Dirección General de Fomento Equino y Remonta del Ejército de Chile, solicitando un estudio de portación fecal de microorganismos del género *Salmonella* spp. en equinos pertenecientes al Regimiento de Artillería Nº 1 Tacna y Escuela Militar del General Bernardo O'Higgins.

COMANDO EN JEFE FUERZA ARMADA División Logística	RMTA. (O) Nº 11250 / FV6 / ESC. MIL. REF.: Programa de Salud Animal 2008 – 2010. OBJ.: Estudio de investigación en ganado de cargo.
---	---

SANTIAGO, **03 ABR. 2009**

DEL COMANDANTE DE LA DIVISIÓN LOGÍSTICA

AL DIRECTOR DE LA ESCUELA MILITAR

- En el contexto de fomentar la investigación en materias referidas a la salud del recurso humano y del cargo de ganado caballar, se informa a US sobre dos trabajos científicos a realizar en caballos racionados en el Centro Ecuestre Militar de Alto Rendimiento de ese Instituto.
 - En 26 caballos a seleccionar, y a partir del presente mes de Abril, se determinarán los niveles en sangre de los antiparasitarios que habitualmente se les administran, y para lo cual se obtendrán muestras seriadas de sangre.
 - En la totalidad del cargo de ganado caballar se efectuará un muestreo de heces para pesquisar la presencia de bacterias del género *Salmonella*, las cuales constituyen un riesgo para la salud humana y por lo cual se cuenta con el apoyo del Servicio de Medicina Preventiva del COSALE.
- Ambas investigaciones, al igual que la obtención de las muestras requeridas, serán efectuadas por el TCL (V) MARIO ACUÑA BRAVO, Asesor de Veterinaria de la División Logística, quien en su condición de académico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile, dirigirá y financiará ambos estudios con recursos de la citada entidad.
- Atendida la importancia de ambos estudios se solicita a US, disponer se le den las facilidades del caso y autorizar las coordinaciones de detalle, vía canal técnico, con el Oficial de Veterinaria de esa Escuela Militar.

Saluda a US


JORGE R. SALAS KURTE
General de Brigada
Comandante de la División Logística

COMANDO DE APOYO A LA FUERZA
División Logística

RM.TA. (O) N° 11250/ 194 /R.C.BL.1.

REF.: Programa de Salud Animal 2008 -
2010.

OBJ.: Estudio de investigación en ganado de
carga.

SANTIAGO, 03 ABR. 2009

DEL COMANDANTE DE LA DIVISIÓN LOGÍSTICA

AL COMANDANTE DEL REGTO. DE CAB. BL. N° 1 "GRANADEROS"

1. En el contexto a fomentar la investigación en materias referidas a la salud del recurso humano y del ganado caballar, se informa a US, sobre un trabajo científico a realizar en el cargo equino de esa UR.
2. A partir del presente mes de Abril y en la totalidad del ganado, se efectuará un muestreo de fecas para pesquisar la presencia de bacterias del género Salmonella, las cuales constituyen un serio riesgo para la salud humana y por lo cual se cuenta con el apoyo del Servicio de Medicina Preventiva del COSALE.
3. Esta investigación, al igual que la obtención de muestras requeridas, será dirigida por el TCL (V) MARIO ACUÑA BRAVO, Asesor de Veterinaria de la División Logística, quien en su condición de académico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Chile, dirigirá y financiará ambos estudios con recursos de la citada entidad.
4. Atendida la importancia de este estudio, se solicita a US disponer se den las facilidades del caso y autorizar las coordinaciones de detalle, vía canal técnico con el Oficial de Veterinaria de esa unidad.

Saluda a US



JORGE R. SALAS KURTE
General de Brigada
Comandante de la División Logística

DISTRIBUCIÓN:

1. RCBL.1
2. DGFER
3. Fac.Cs.Vet.U.de Chile ✓
4. DIVLOG (Arch.SAN.MIL.)

Anexo 2

Identificación, sexo y edad de los caballos que participaron en el estudio, ordenados de acuerdo a la Unidad Militar y al Grupo en que fueron muestreado.

Unidad Militar A											
Regimiento de Artillería Nº 1 Tacna, San Bernardo											
GRUPO I				GRUPO II				GRUPO III			
Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)	Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)	Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
1	Cachiyuyo	M*	23	21	Helice	H	ND	41	Navidad	H	11
2	Ayuyes	M	21	22	Fuyan	H	ND	42	Copo	M	19
3	Dakar	M	20	23	Paniri	H	ND	43	Julianito	M	12
4	Karakorum	M	11	24	Jinete	M	ND	44	Nangaton	M	9
5	Karkar	M	11	25	Espinoso	M	ND	45	Guijoso	M	15
6	Estaquilla	H**	17	26	Rajo	M	ND	46	Epucura	H	17
7	Jote	M	12	27	Hortensia	H	ND	47	Ifulco	M	13
8	Distinta	H	21	28	Machina	H	ND	48	Desfiladero	M	19
9	Lampara	H	10	29	Inferior	M	ND	49	Jatita	H	12
10	Festin	M	16	30	Gualle	M	ND	50	Garruda	H	16
11	Huincha	H	ND***	31	Mahuida	H	ND	51	Kabuki	M	12
12	Ian	H	14	32	Busquillo	M	ND	52	Destello	M	18
13	Macetero	M	10	33	Kalambaca	H	ND	53	Lincay	M	10
14	Entonada	H	17	34	Forrahue	M	ND	54	Estuco	M	17
15	Kapok	M	11	35	Quicio	M	ND	55	Kepi	M	12
16	Cataluño	M	20	36	Simbad	M	ND	56	D.Bárbara	H	23
17	Panteon	M	6	37	Machuca	M	ND	57	Huallijaro	M	14
18	Hierro	M	14	38	Kerima	H	ND	58	Beni	M	21
19	Gringa	H	15	39	Imperiosa	H	ND	59	Demósteles	M	18
20	Palermo	M	6	40	Matahari	H	ND	60	Jerarquia	H	13

M*: macho; **H**:** hembra; **ND***:** dato No Disponible

Unidad Militar A

Regimiento de Artillería Nº 1 Tacna, San Bernardo

GRUPO IV

GRUPO V

GRUPO VI

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
61	Higirio	M*	14
62	Jungla	H**	12
63	Izamel	M	11
64	Gallito	M	16
65	Ilta	M	13
66	Pampita	H	ND***
67	Botino	M	20
68	Jiguata	H	12
69	Bronquina	H	20
70	Rambo	M	17
71	Kilovatio	M	11
72	Quilon	M	5
73	D. Javiera	H	ND
74	Karma	H	11
75	Procaz	H	7
76	Caravana	H	22
77	Indio del sur	M	14
78	Hormiga	H	14
79	Tres Bond	M	5
80	Jubilado	M	12

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
81	Napelo	M	9
82	Huillihue	M	15
83	Nociva	H	9
84	Quecha	H	6
85	Mahuincha	H	10
86	Olfativa	H	8
87	Epuchi	M	18
88	Jilguero	M	13
89	Inclemente	M	13
90	Esperanza	H	18
91	Gardel	M	16
92	Huencheco	M	14
93	Quinqué	H	5
94	Madreporico	M	9
95	Incidiosa	H	14
96	Halagada	H	15
97	Kilovoltio	M	11
98	Quiosco	M	6
99	Escarlata	H	18
100	Quillango	M	5

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
101	Clandestina	H	ND
102	Flecha	H	ND
103	Lucero	H	8
104	Nordico	M	9
105	Manquehue	M	14
106	Kentucky	M	12
107	Quiyet	H	5
108	Kaleb	M	7
109	Gaspar	M	16
110	Whisky	M	ND
111	Duqueco	M	19
112	Templanza	H	3
113	Quingo	M	6
114	Skarto	M	10

M*: macho; **H**:** hembra; **ND***:** dato No Disponible

Unidad Militar B

Escuela Militar del General Bernardo O`Higgins, Santiago

GRUPO VII**GRUPO VIII**

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
115	Fresia Q.	H**	17
116	Gaban	M*	16
117	Guadalo	M	16
118	Jordana	H	13
119	Lazarillo	M	11
120	Ligamento	M	11
121	Pancho	M	11
122	Predilecto	M	8
123	Aromo	M	15
124	Tabacalero	M	18
125	Jalisco	M	13
126	Kaurea	H	12
127	Letania	H	11
128	Liverpool	M	11
129	Ollahue	M	9
130	Ovalada	H	8
131	Emblema	M	11
132	Ciclón	M	14
133	Eufrates	M	ND***
134	Harpócrates	M	ND

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
135	Imahue	M	14
136	Acética	H	25
137	Ellantúe	H	18
138	Goliat	M	16
139	Guilleria	H	16
140	Indiana	H	14
141	Imperio	H	13
142	Jiron	M	13
143	Majestuoso	M	9
144	Oasis	M	8
145	Quellancahua	H	6
146	Sombra	H	4
147	Gran Dama	H	ND
148	Jaguar	M	13
149	Cartagena	H	5
150	Lord Abdula	M	8
151	Q.R. Pillán	M	10
152	Olimpia	H	8
153	Q.R. Flandes	M	10
154	Nicollette	H	8

M*: macho; **H**:** hembra; **ND***:** dato No Disponible

Unidad Militar B

Escuela Militar del General Bernardo O`Higgins, Santiago

GRUPO IX**GRUPO X**

Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)	Nº	Nombre	Sexo	Edad (años)
155	Betty Blue	H**	11	178	Tincuda	H	10
156	Adic Z	M*	8	179	Gran Señor	M	14
157	Alborada	H	13	180	Romeo	M	ND
158	Cantarito	M	17	181	Leñador	M	11
159	Badejuz	M	7	182	Forrajido	M	ND
160	Caquel iris	H	12	183	Recoleta	H	6
161	Mary Quini	H	12	184	Mala Cara	H	10
162	Marejada	H	10	185	Frida	H	14
163	Sam	M	5	186	Júpiter	M	5
164	Naranjero	M	13	187	Pregón	M	8
165	Queni	H	10	188	Wisky	M	11
166	Moroco	M	ND***	189	Oceánico	M	8
167	Natalia	H	ND	190	Talibán	M	9
168	Tita	H	ND	191	King of Flower	M	9
169	Versado	M	16	192	Caribeña	H	ND
170	Diamante	M	14	193	Qui de Trimp	M	ND
171	Esperanza	H	11	194	Carey	M	17
172	Madmoiselle	H	10	195	Super Goffi	M	10
173	Don Furry	M	4	196	Petrohue	M	12
174	Don Augusto	M	7	197	Crisanta	H	8
175	Espartano	M	ND	198	Don Fernando	M	ND
176	Mister	M	13	199	Príncipe Moro	M	18
177	Gran Señor II	M	ND	200	Sagitario	M	ND

M*: macho; **H**:** hembra; **ND***:** dato No Disponible