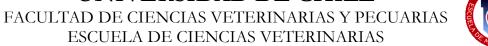


UNIVERSIDAD DE CHILE



S AREDICITY A

DETECCIÓN DE LOS ENTEROPATÓGENOS Cryptosporidium sp. Y Salmonella enterica EN PINNÍPEDOS DE CHILE

NATALIE STURM MOREIRA

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

PROFESOR GUÍA: PATRICIO RETAMAL

SANTIAGO, CHILE 2011



UNIVERSIDAD DE CHILE



DETECCIÓN DE LOS ENTEROPATÓGENOS Cryptosporidium sp. Y Salmonella enterica EN PINNÍPEDOS DE CHILE

NATALIE STURM MOREIRA

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

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA	: PATRICIO RETAMAL		
PROFESOR CONSEJERO			
PROFESOR CONSEJERO	O: GUSTAVO FARÍAS		

NOTA FINAL:

SANTIAGO, CHILE 2011

MEMORIA DE TITULO

"DETECCIÓN DE LOS ENTEROPATÓGENOS Cryptosporidium sp. Y Salmonella enterica EN PINNÍPEDOS DE CHILE"

"DETECTION OF THE ENTEROPATOGHENS Cryptosporidium sp. AND Salmonella enterica IN PINNIPEDS OF CHILE"

Natalie Marie Sturm Moreira*

*Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Financiamiento

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto FIV 19102003.

RESUMEN.

Cryptosporidium sp. y Salmonella enterica son dos agentes zoonóticos que producen infección

intestinal, siendo transmitidos por la vía fecal-oral, donde tanto el agua como los alimentos

juegan un rol epidemiológico importante. Ambos patógenos, han sido detectados en aguas

marinas y se ha determinado que infectan a mamíferos marinos en distintas partes del mundo, no

existiendo antecedentes nacionales relacionados. Con el objetivo de detectar estos patógenos en

pinnípedos de Chile, en este estudio se tomaron muestras a partir de tórulas rectales y heces

frescas de animales provenientes de distintas regiones del país, albergados en el centro de

rehabilitación de Buin Marino. En dos de las muestras obtenidas a partir de lobos marinos

comunes (Otaria flavescens) se aisló S. enterica, lo que constituye la primera evidencia de su

presencia en pinnípedos de nuestras costas. No se detectó Cryptosporidium sp. en ninguna de las

muestras analizadas, requiriéndose nuevos estudios para dilucidar la presencia de este agente en

animales marinos de nuestro país.

Palabras claves: Cryptosporidium sp., Salmonella enterica, pinnípedos, Chile.

ABSTRACT.

Cryptosporidium sp. and Salmonella enterica are both zoonotic agents that cause intestinal

infection. They have a fecal-oral transmission, with water and food playing an important

epidemiological role. Both pathogens have been detected in marine environments and it has been

reported that they infect marine mammals in different world regions, being pinnipeds among

them. However, there aren't any records of these agents infecting marine mammals in Chile. In

this study, Chilean pinnipeds were sampled to detect infection with these pathogens. Two

samples were positive for S. enterica, confirming the presence of this agent in pinnipeds off the

Chilean coast. Cryptosporidium sp. was not detected in any sample, however we cannot discard

the presence of this protozoa and new studies are required in Chilean marine mammals.

Key words: Cryptosporidium sp., Salmonella enterica, pinnipeds, Chile

INTRODUCCIÓN.

Actualmente las enfermedades zoonóticas constituyen una preocupación a nivel mundial. La relación que existe entre los agentes patógenos zoonóticos y los animales silvestres, tanto terrestres como marinos, cobra relevancia debido a que éstos pueden actuar como reservorios para algunos de estos agentes. El inadecuado tratamiento y eliminación de aguas residuales, así como de otros efluentes de las actividades agrícolas ha producido la contaminación del ambiente marino (Fayer, 2004). Diversos agentes biológicos son constantemente liberados en diferentes concentraciones al mar por humanos, mascotas, ganado y animales silvestres. Factores ambientales como salinidad, temperatura, nutrientes y luz, influyen en la supervivencia y a veces proliferación de estos patógenos, habiéndose detectado diferentes bacterias, virus, hongos y protozoos en el ambiente marino y en un amplia variedad de mamíferos marinos, incluyendo pinnípedos, delfines y cetáceos, entre otros (Steward *et al.*, 2008).

Algunos de los patógenos zoonóticos, que se han encontrado en pinnípedos alrededor del mundo, son *Cryptosporidium* sp. y *Salmonella enterica*. Ambos agentes causan diarrea y su hábitat natural es el hospedero animal y humano. Estos patógenos son transmitidos a través de la ruta fecal-oral donde tanto el agua como los alimentos constituyen una posible vía de transmisión (Kosec *et al.*, 2003).

Cryptosporidium sp. es un parásito protozoario de distribución mundial con más de 20 especies, que tienen la capacidad de infectar anfibios, peces, reptiles, aves y mamíferos (Fayer, 2004). Puede causar infección gastrointestinal en una amplia variedad de mamíferos, incluido el ser humano (Del Coco *et al.*, 2009). *C. parvum* es la especie más prevalente en los animales, informándose más de 150 mamíferos hospedadores distintos (Fayer, 2004). El ooquiste, su estadio infectivo de alta resistencia al medio ambiente, posee forma esférica con un tamaño aproximado de 4 a 6 μm de diámetro. Los ooquistes pueden ser eliminados en grandes cantidades por las heces (Fayer, 2004; Del Coco *et al.*, 2009) y tienen la capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en agua marinas, manteniéndose viables hasta por seis meses (Fayer, 2004).

La transmisión de este patógeno se ha relacionado con la ingestión de agua y alimentos contaminados con material fecal. La diseminación de la infección entre mamíferos acuáticos, puede ser facilitada por factores relacionados con la intensidad de la contaminación ambiental y

la supervivencia de los ooquistes en el agua, según las condiciones del medio (Gomes *et al.*, 2007).

Poco es lo que se sabe de la presencia de *Cryptosporidium* sp. en mamíferos marinos. El primer registro de infección que existe en un mamífero acuático es en un dugongo (*Dugong dugon*) (Hill *et al.*, 1997). El primer registro de este parásito en pinnípedos es un estudio realizado por Deng *et al.* (2000), en lobos marinos californianos (*Zalophus californianus*), en que se detectó *C. parvum* en muestras de heces. Posteriormente, Hughes-Hanks *et al.* (2005), detectaron este parásito en focas anilladas (*Phoca hispida*). Recientemente también se ha descrito *Cryptosporidium* sp. en otros mamíferos acuáticos como el manatí antillano (*Trichechus manatus manatus*), manatí amazónico (*Trichechus inunguis*) (Gomes *et al.*, 2007), en la ballena boreal (*Balaena mysticetus*) y en la ballena franca (*Eubalaena glaciales*) (Hughes-Hanks *et al.*, 2005).

Por otra parte, *Salmonella* sp. pertenece a la familia Enterobacteriaceae, y corresponde a una bacteria anaeróbica facultativa, gram negativa, para la que se describen tres especies: *S. enterica*, *S. bongori* y *S. subterranea*. De ellas, *S. enterica* es la que genera enfermedad tanto en humanos como en animales (Sánchez y Cardona, 2003). Dentro de esta especie se han descrito más de 2.500 serotipos, algunos de los cuales son especie específicos y otros tienen un amplio rango de hospederos, causando enfermedad en una gran diversidad de especies. Este patógeno entérico se puede transmitir por muchas vías, sin embargo, la mayoría de las infecciones se presentan por la ingestión de agua o alimentos contaminados (Sánchez y Cardona, 2003), ya que las heces tanto humanas como animales son la principal fuente de diseminación de *S. enterica*. La habilidad de este agente para ser transmitido por cualquiera de estas rutas depende fundamentalmente de su resistencia a factores medio ambientales, que controlan su supervivencia y de su capacidad de ser transportado por el agua, cuando se encuentra en la naturaleza (Baudart *et al.*, 2000).

Es común encontrar *Salmonella* en aguas residuales y aguas provenientes de granjas. Esto constituye una importante fuente de contaminación para las aguas naturales y puede contribuir a la transmisión de la infección, siendo una amenaza para la salud humana y animal (Polo *et al.*, 1999).

Muchos serotipos de Salmonella han sido identificados en mamíferos marinos. Los primeros aislamientos de los cuales se tiene registro en estos animales son de una beluga (Delphinapterus

leucas), una ballena hocico de botella (*Hyperoodon rostrarum*), un lobo marino californiano (*Z. californianus*) y un oso marino ártico (*Callorhinus ursinus*). Gilmartin *et al.* (1979) obtuvieron muestras de tórulas rectales desde lobos marinos californianos y osos marinos árticos sanos del sur de California. Los resultados mostraron la presencia de tres serotipos de *Salmonella*:

S. Newport, S. Oranienburg y S. Heidelberg, los que fueron encontradas en el 40% de los lobos marinos y en un 33% de los osos marinos.

En otro estudio, realizado por Stoddard *et al.* (2005), se tomaron muestras rectales con tórulas de 195 elefantes marinos del norte (*Mirounga angustirostris*) que vararon en las costas de California. 72 de estos elefantes marinos, equivalente al 36,9%, presentaron *Salmonella* spp., siendo *S.* Newport el serotipo más común. En una publicación posterior de estos mismos autores se describió la presencia de 5 serotipos de *Salmonella* en dos especies de pinnípedos, lobos marinos californianos y elefantes marinos del norte, en las Islas del Canal, California. Los serotipos encontrados fueron: *S.* Enteritidis, *S.* Montevideo, *S.* Newport, *S.* Reading y *S.* Saint Paul (Stoddard *et al.*, 2008).

Por último, también existen antecedentes de la presencia de diferentes serotipos de *Salmonella* en lobos marinos de Nueva Zelanda (*Phocartus hookeri*) (Fenwick *et al*, 2004).

En Chile son escasos los antecedentes que existen sobre el estatus sanitario de los mamíferos marinos, y nunca se ha informado de la presencia de *Cryptosporidium* sp. y *S. enterica* en este grupo de animales. Por lo mismo, el objetivo de este trabajo fue detectar ambos enteropatógenos en pinnípedos que habitan las costas de nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS.

1. Muestras.

Se recolectaron muestras de heces de pinnípedos silvestres que llegaron al Centro de Rehabilitación de Buin Marino, entre los meses de Agosto y Diciembre del año 2010. Se tomaron muestras a partir de tórulas rectales en lobos marinos anestesiados con isofluorano o inmovilizados mecánicamente desde la columna por parte del personal médico del Centro. A continuación las tórulas fueron depositadas en medio de transporte Cary-Blair. Asimismo se tomaron muestras de heces frescas recogidas directamente del suelo en tubos estériles que contenían etanol 70%. En total se tomaron 23 muestras.

Las muestras tomadas fueron:

• 7 muestras de heces frescas: 2 lobos marinos comunes (*Otaria flavescens*)

3 "pools" de lobos marinos comunes

1 lobo marino subantártico (Arctocephalus tropicalis)

1 foca leopardo (*Hydrurga leptonyx*).

• 16 muestras de tórulas rectales: 12 de lobos marinos comunes

4 de elefantes marinos del sur (*Mirounga leonina*)

Con respecto a las 4 muestras de elefantes marinos del sur, éstas fueron tomadas después de inyectar a los animales con un sedante (Zoletil®), una combinación de clorhidrato de Tiletamina y clorhidrato de Zolazepam. Fueron enviadas gentilmente por la Dra. Catherine Dougnac, y obtenidas en la expedición científica al Seno Almirantazgo, Tierra del Fuego, liderada y financiada por Wildlife Conservation Society (WCS) Chile, con el apoyo del Programa Global de Salud (GHP) y el Programa Marino de WCS.

Las muestras fueron llevadas en una caja hermética a la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET) de la Universidad de Chile, donde fueron procesadas en los laboratorios de Enfermedades Infecciosas, de Parasitología, de Inocuidad de los Alimentos y de Microbiología.

2. Identificación de Cryptosporidium sp.

Se tomaron 50 g de la muestra que fueron fijados con formalina 10% por 30 min, y después de una centrifugación a 3000xg por 30 min, se eliminó el sobrenadante para luego hacer un extendido en un portaobjetos que fue teñido mediante la tinción de Ziehl-Neelsen modificada (Fredes *et al.*, 2007). Mediante microscopia óptica con objetivo 100X se intentó la identificación de los ooquistes.

3. Identificación de Salmonella enterica

La tórula de muestra fue introducida en 5 mL de agua peptonada tamponada (ATP) (preenriquecimiento no-selectivo) y este inóculo fue incubado a 42°C por 24 h. Luego, a partir de esta suspensión se sembró una placa de agar de Selenito-Lisina-Desoxicolato (XLD) (Difco®), y el resto del cultivo fue transferido a un tubo con 5 mL de caldo Selenito Cistina doble concentración SCDC (Difco®), incubándose a 42 °C por 24 h. A continuación, 100 μL fueron transferidos desde el SCDC a una placa de agar XLD que fue incubada posteriormente a 42°C por 24-48 h.

A partir de estos cultivos se obtuvieron colonias sospechosas, caracterizadas por poseer el mismo color del medio y ser traslúcidas, pudiendo presentar en ocasiones un centro negro. Estas colonias fueron confirmadas por pruebas bioquímicas: Agar Triple Azúcar Hierro (TSI), Agar Hierro Lisina (LIA), Agar Urea, Reacción de Voges-Proskauer (RM-VP), detección de β-galactosidasa, reacción Indol y Agar Motilidad-Indol-Ornitina (MIO). Estos procedimientos se realizaron según la Norma Chilena Oficial NCh. 2675 Of2002.

Las colonias positivas fueron serotipificadas de acuerdo al protocolo de Kauffmann-White (Grimont y Weill, 2007) en el laboratorio de Bacteriología del Instituto de Salud Pública (ISP), a cargo de la Sra. Alda Fernández.

RESULTADOS.

Los resultados están presentados en la Tabla 1, indicando identificación, especie, sexo, edad, procedencia y resultados tanto para *Salmonella enterica* como para *Cryptosporidium* sp. de cada muestra.

Se encontraron 2 muestras positivas en 2 lobos marinos comunes para *Salmonella*, las que fueron indentificadas como *S.* Havana y *S.* Newport. No se obtuvieron muestras positivas para *Cryptosporidium* sp.

Tabla 1. Identificación de muestras y resultados para Salmonella enterica y Cryptosporidium sp.

ID	Especie	Sexo	Edad	Procedencia	Resultado*	
Muestra					S	C
P070810	Otaria flavescens	Hembra	Juvenil	N.D	-	-
P170810	Hydrurga leptonyx	Hembra	Juvenil	N.D	-	-
P240810	Otaria flavescens	Hembra	Juvenil	Los Vilos	-	N.D.
P260810	Otaria flavescens	Hembra	Juvenil	Los Vilos	-	-
P090910-1	Otaria flavescens	Macho	Cachorro	Antofagasta	S. Havana	N.D.
P090910-2	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P140910	Otaria flavescens	Macho	Cachorro	Antofagasta	S. Newport	N.D.
P021110	Arctocephalus	Hembra	Cachorro	Algarrobo	-	-
	tropicales					
P011210-1	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-2	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-3	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-4	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-5	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-6	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P011210-7	Otaria flavescens	Hembra	Cachorro	Antofagasta	-	N.D.
P221210-1	Mirounga leonina	Macho	Juvenil	Tierra del Fuego	-	N.D.
P221210-2	Mirounga leonina	Macho	Juvenil	Tierra del Fuego	-	N.D.
P221210-3	Mirounga leonina	Macho	Juvenil	Tierra del Fuego	-	N.D.
P221210-4	Mirounga leonina	Macho	Juvenil	Tierra del Fuego	-	N.D.
Pool A	Otaria flavescens		Cachorro	Antofagasta	N.D.	-
Pool B	Otaria flavescens		Cachorro	Antofagasta	N.D.	-
Pool C	Otaria flavescens		Cachorro	Antofagasta	N.D.	-

^{*}S: Salmonella enterica; C: Cryptosporidium sp.

N.D: no determinado

DISCUSIÓN.

Las actividades humanas tienen un impacto importante sobre la salud de los mamíferos marinos, quienes pueden ser considerados como especies centinelas ambientales, con parásitos acuáticos y bacterias como las estudiadas en este trabajo. En este sentido, se han detectado tanto S. enterica como ooquistes de Cryptosporidium en muestras de aguas marinas de áreas en que se disponen desechos tratados o descargas rurales (Catalao et al., 2000; Payment et al., 2001). Moluscos, tales como ostras y mejillones, también han demostrado la presencia de estos patógenos (Fayer et al., 2003; Fayer et al., 2004; Martinez-Urtaza et al., 2004). La clave para determinar si las actividades humanas, tales como las crianzas de animales y la disposición de aguas residuales, son fuentes posibles de contaminación que a su vez, constituyen un riesgo para la infección de mamíferos marinos, es determinar las especies y serotipos que naturalmente infectan a estos animales. Por ejemplo, como la mayoría de las especies y subtipos de Cryptosporidium sp. son especie específicos, la identificación de líneas adaptadas a un hospedero terrestre en mamíferos marinos, como C. hominis, podría indicar que los desechos efectivamente constituyen una probable causa de contaminación e infección (Appelbee et al., 2005). En el caso de Salmonella, se sabe de la presencia de diferentes serotipos en aguas marinas, aunque en Chile no existen estudios al respecto. Por este motivo, es difícil determinar si la infección de los dos ejemplares positivos en este trabajo, es consecuencia de la descarga de desechos humanos.

La detección de *S. enterica* en dos de las muestras confirma la presencia de este patógeno en lobos marinos comunes, siendo la primera vez que se reporta el agente en mamíferos marinos que habitan las costas de Chile. Llama la atención que ambos animales positivos procedan de Antofagasta, zona norte de Chile, y que ambos sean machos juveniles que se encontraban en un buen estado de salud. Este hallazgo contrasta con otro estudio realizado en el sur del país (Valdivia), en que se buscaron especies de la familia Enterobacteriaceae en lobos marinos comunes y no se detectó *S. enterica* (González-Fuentes *et al.*, 2010). La explicación de esta diferencia, puede relacionarse a factores geográficos en la distribución del agente, a que la carga de contaminación de las aguas o de los mamíferos en el norte difiera con la del sur, a que el número de muestras analizadas no haya sido suficiente para detectar el agente en el sur, o bien a diferencias en la toma y procesamiento de las muestras, ya que las detecciones en este estudio se obtuvieron a través de tórulas rectales, a diferencia de lo realizado en Valdivia, en que se recogieron las heces directamente del suelo.

Los serotipos de *Salmonella* aislados en diversos estudios corresponden a *S.* Newport, *S.* Oranienburg, *S.* Heidelberg, *S.* Saint Paul, *S.* Montevideo, *S.* Typhimurium, *S.* Reading, *S.* Cerro, *S.* Havana y *S.* Enteritidis (Gilmartin *et al.*,1979; Palmgren *et al.*, 2000; Fenwick *et al.*, 2004; Stoddard *et al.*, 2005; Stoddard *et al.*, 2008). De estos, *S.* Newport parece ser el más común de encontrar en lobos marinos, ya que se describe en los distintos estudios. Este trabajo no fue la excepción, puesto que uno de los serotipos identificados fue *S.* Newport, lo que sugiere su amplia distribución en pinnípedos alrededor del mundo. El otro serotipo asilado, *S.* Havana, solo ha sido previamente aislado en lobos marinos antárticos (*Arctocephalus gazella*) (Palmgren *et al.*, 2000).

Las dos muestras positivas provenían de animales asintomáticos. Una posibilidad es que los serotipos aislados no produzcan enfermedad o bien, la produzcan cuando existen otros factores predisponentes. Otra posibilidad es que los animales, ya sea por anticuerpos maternos adquiridos pasivamente o por competencia inmune temprana, no experimenten la enfermedad si no que sean portadores transitorios asintomáticos.

Se sabe que *Salmonella* es capaz de subsistir en el ambiente marino y se ha observado que puede sobrevivir sin dificultades por 8 semanas en aguas marinas, siendo favorecida por temperaturas bajas (Hernroth *et al.*, 2010), además de soportar salinidades tan altas como 3,5% (Minette, 1986). En un estudio realizado en España, se aislaron 42 serotipos de *Salmonella* de aguas marinas, algunos de los cuales se han observado en casos clínicos en humanos, lo que sugiere que la contaminación con aguas residuales de origen antropogénico puede ser un riesgo de infección para diversos animales marinos, habiéndose incluso detectado en moluscos (Polo *et al.*, 1999; Martinez-Urtaza *et al.*, 2004). Debido al hallazgo realizado en este trabajo con animales proveniente de la zona norte de Chile, existen ahora antecedentes para promover estudios dirigidos a determinar las características epidemiológicas de la infección en las aguas y fauna marina de esta zona del país.

Por otra parte, probablemente debido al pequeño tamaño muestral utilizado para la detección de *Cryptosporidium* sp., su aparente ausencia sugiere la necesidad de continuar con los esfuerzos en el diagnóstico, considerando las condiciones óptimas para la obtención, transporte y manipulación de las muestras. Lo ideal es que las heces se colecten en el momento inmediatamente posterior a la defecación del animal, y que se privilegien aquellos individuos sintomáticos, es decir, con cuadros diarreicos o signos clínicos sugerentes de criptosporidiasis

(Medina *et al.*, 1988; Alcaíno *et al.*, 1989). Es muy probable que este agente se encuentre en mamíferos marinos, ya que en la literatura se ha descrito la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en lobos marinos californianos, dugongo, ballenas boreales, ballenas francas, manatí antillano, manatí amazónico y focas anilladas, y además, porque se ha descrito en humanos (Neira, 1988) y animales domésticos de nuestro país (Alcaíno *et al*, 1989; Gorman *et al.*, 1990)

Es importante que se siga investigando con respecto a la presencia de los dos patógenos estudiados en este trabajo en pinnípedos de nuestro país, ya que se trata de agentes zoonóticos que pueden poner en riesgo la salud humana. Además no existe mucha información sobre como estos agentes pudieran afectar la salud de estos animales y si pueden jugar un rol relevante en términos de su conservación. La confirmación de que existen lobos marinos en Chile infectados con *S. enterica*, debiera ser un incentivo para seguir estudiando este agente en mamífero marinos, tomando muestras en distintas regiones del país para establecer si existen diferencias geográficas, así como en animales de diferentes edades y en distintas temporadas. Además es fundamental indicar que las personas que trabajan con frecuencia con este tipo de animales, tomen las precauciones necesarias al manipularlos para no exponerse a una zoonosis.

CONCLUSIONES.

La detección en este trabajo de *Salmonella enterica* en dos lobos marinos, confirma la presencia de este patógeno en pinnípedos de Chile. La importancia del hallazgo radica en ser la primera evidencia de la infección en este tipo de animales en el país, y que a su vez, se trata de un agente zoonótico, por lo que constituye un riesgo potencial para la salud humana. A pesar de no identificarse ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en este estudio, no se puede concluir su ausencia en pinnípedos de nuestro país, ya que el tamaño muestral fue muy reducido. Finalmente, se sugiere continuar con el desarrollo de investigaciones en esta área.

BIBLIOGRAFÍA.

- **ALCAÍNO H., LAVAL E., GORMAN T., PINOCHET L., DÍAZ I.** 1989. Isosporosis y criptosporidiosis en cerdos de criaderos industriales de la Región Metropolitana de Chile. Arch. Med. Vet. 21(2): 131-135.
- **APPELBEE A.J., THOMPSON R.C., OLSON M.E.** 2005. Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife- current status and future needs. Trends Parasitol. 21(8): 370-376.
- **BAUDART J., LEMARCHANT K., BRISABOIS L., LEBARON B.** 2000. Diversity of Salmonella Strains Isolated from the Aquatic Environment as Determined by Serotyping and Amplification of the Ribosomal DNA Spacer Regions. Appl. Environ. Microbiol. 66(4): 1544-1552.
- CATALAO L.P., JOAO M., SOARES V., FIDALGO M.L., GARCÍA M.E., BORREGO J.J. 2000. Ocurrence of *Salmonella* spp. in estuarine and coastal waters of Portugal. Antonie Leeuwenhoek 78(1): 99-106.
- **DEL COCO V.F., CÓRDOBA M.A., BASUALDO J.A.** 2009. Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. Rev. Argen. Microbiol. 41(3): 185-196.
- **DENG M.Q., PETERSON R.P., CLIVER D.O.** 2000. First findings of Cryptosporidium and Giardia in California sea lions (Zalophus californianus). J Parasitol. 86(3): 490-494.
- **FAYER R., TROUT J.M., LEWIS E.J., SANTIN M., ZHOU L., LAL A.A., XIAO L.** 2003. Contamination of Atlantic coast commercial shellfish with Cryptosporidium. Parasitol Res. 89(2): 141-145.
- **FAYER R.** 2004. Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. Vet. Parasitol. 126(1-2): 37-56.
- **FAYER R., DUBEY J.P., LINDSAY D.S.** 2004. Zoonotic protozoa: from land to sea. Trends Parasitol. 20(11): 531-536.
- **FENWICK S.G., DUIGNAN P.J., NICOL C.M., LEYLAND M.J., HUNTER J.E.** 2004. A comparison of Salmonella serotypes isolated from New Zealand sea lions and feral pigs on the Auckland Islands by pulsed-field gel electrophoresis. J. Wildl. Dis. 40(3): 566-570.
- **FREDES F., RAFFO E., MUÑOZ P.** 2007. First report of Cryptosporidium spp. oocysts in stool of Adelie penguin from the Antarctic using acid-fast stain. Antarct. Sci. 19: 437-438.
- **GILMARTIN W., VAINIK P., NEILL V.** 1979. Salmonellae in feral pinnipeds off the southern California coast. J. Wildl. Dis. 15(4): 511-514.
- GOMES J., CAMARA L., DOS SANTOS D., DE OLIVEIRA F., CARRASCO J., VERGARA-PARENTE J., DA GLORIA M.A., ALVES A.M, MARMONTEL M. 2007. Ocurrencia de Cryptosporidium spp. en manatí amazônico. Biotemas 20(3): 63-66.

- GONZÁLEZ-FUENTES M., LATIF F., FERNÁNDEZ F., VILLANUEVA M.P., ULLOA J., FERNÁNDEZ H. 2010. Especies de la familia *Enterobacteriacea* en heces de lobo marino común, *Otaria flavescens*, establecidos en el río Valdivia. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 45(2): 331-334.
- **GORMAN T., ALCAÍNO H., MANDRY P.** 1990. Criptosporidiosis en ovinos y caprinos de la zona central de Chile. Arch. Med. Vet. 22(2): 155-158.
- **GRIMONT P. A., WEILL F.X.** 2007. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. (ninth ed.), WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris. [available at http://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089] [citado en Marzo 2011]
- **HERNROTH B., LOTHIGIUS A., BÖLIN I.** 2010. Factors influencing survival of enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* (serovar Thyphimurium) and *Vibrio paraheamolyticus* in marine environments. FEMS Microbiol Ecol. 71(2): 272-280.
- **HILL B.D., FRASER I.R., PRIOR H.C.** 1997. Cryptosporidium infection in a dugong (Dugong dugon). Aust. Vet. J. 75(9): 670-671.
- HUGHES-HANKS J.M., RICKARD L.G., PANUSKA C., SAUCIER J.R., O'HARA T.M., **DEHN L.**, **ROLLAND R.M.** 2005. Prevalence of Cryptosporidium spp. and Giardia spp. in five marine mammal species. J Parasitol. 91(5): 1225-1228.
- **KOSEC M., BERN C., GUERRANT R.L.** 2003. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bull World Health Organ 81(3): 197-204.
- MARTINEZ-URTAZA J., SACO M., DE NOVOA J., PEREZ-PIÑEIRO P., PEITEADO J., LOZANO-LEON A., GARCIA-MARTIN O. 2004. Influence of environmental factors and human activity on the presence of *Salmonella* serovars in a marine environment. Appl. Environ. Microbiol. 70(4): 2089-2097.
- MEDINA L.A., ÁNGEL V., FRANCO L., JARAMILLO J.C., OCHOA F.L., VÁSQUEZ A.M. 1988. Prevalencia de Cryptosporidium en muestras fecales diarréicas en seis laboratorios de Medellín. Estudio de 100 casos. Salud Uninorte 4-5(1): 45-52.
- **MINETTE H.P.** 1986. Salmonellosis in the marine environment. A review and commentary. Int J Zoonoses 13(2): 71-75.
- **NEIRA P**. 1988. Cryptosporidiosis en la V región, Chile: I estudio en pacientes con síndrome diarreicos, 1985-1987. Parasitol. Día 12(1): 25-29.
- PALMGREN H., MCCAFFERTY D., ASPÁN A., BROMAN T., SELLIN M., WOLLIN R., BERGSTRÖM S., OLSEN B. 2000. Salmonella in Sub-Antarctica: low heterogeneity in salmonella serotypes in South Georgian seals and birds. Epidemiol. Infect. 125(2): 257-262.

- **PAYMENT P., PLANTE R., CEJKA P.** 2001. Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, Giardia cysts, and Cryptosporidium oocysts at a large wastewater primary treatment facility. Can J Microbiol. 47(3): 188-193.
- **POLO F., FIGUERAS M.J., INZA I., SALA J., FLEISCHER J.M., GUARRO J.** 1999. Prevalence of Salmonella serotypes in environmental waters and their relationships with indicator organisms. Antonie Leeuwenhoek 75(4): 285-292.
- **SÁNCHEZ M., CARDONA N.** 2003. Mecanismos de interacción de Salmonella con la mucosa intestinal. Infectio 7(1): 22-29.
- STEWARD J., GAST R., FUJIOKA R., SOLO-GABRIELE H., MESCHKE J., AMARAL-ZETTLER L., DEL CASTILLO E., POLZ M., COLLIER T., STROM M., SINIGALLIANO C., MOELLER P., HOLLAND A. 2008. The coastal environment and human health: microbial indicators, pathogens, sentinels and reservoirs. Environ Health. 2008 7(2): 1-14.
- **STODDARD R.A., GULLAND M.D., ATWILL E.R., LAWRENCE J., JANG S., CONRAD P.A.** 2005. Salmonella and Campylobacter spp. in northern elephant seals, California. Emerg Infect Dis. 11(12): 1967-1969.
- **STODDARD R.A., DELONG R.L., BYRNE B.A., JANG S., GULLAND F.M.** 2008. Prevalence and characterization of Salmonella spp. among marine animals in the Channel Islands, California. Dis Aquat Org 81: 5-11.