



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



DETECCIÓN DE *Salmonella enterica* EN MAMÍFEROS Y AVES
ACUÁTICAS DEL PARQUE ZOOLOGICO BUIN ZOO

KAREN ALEJANDRA DE LOURDES ESPINOZA REYES

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

PROFESOR GUÍA: PATRICIO RETAMAL

SANTIAGO, CHILE
2013



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



DETECCIÓN DE *Salmonella enterica* EN MAMÍFEROS Y AVES
ACUÁTICAS DEL PARQUE ZOOLOGICO BUIN ZOO

KAREN ALEJANDRA DE LOURDES ESPINOZA REYES

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

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : PATRICIO RETAMAL
PROFESOR CONSEJERO: PEDRO ABALOS
PROFESOR CONSEJERO: CRISTOBAL BRICEÑO

SANTIAGO, CHILE

2013

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en primera instancia el apoyo incondicional de mi familia, la paciencia y el cariño con los que me acompañaron a lo largo de todo el proceso universitario, especialmente de mi madre, ya que sin ella nada de esto sería posible (por eso te adoro madre) y a mi hermano que logró apoyarme en los momentos difíciles. Agradecer además a mi pareja por mantenerse junto a mí y darme fuerzas cuando más lo he necesitado, sin tu apoyo este proceso habría sido muy complejo, gracias Efraín, te amo.

Agradecer además a todas mis amigas y amigos que compartieron esta linda experiencia universitaria junto a mí, siempre recordaré las noches de estudio, las discusiones para realizar un trabajo y los momentos de relax después de una semana estresante.

Finalmente agradezco a todas las personas participantes en la realización de mi proyecto de memoria de título, principalmente a mi profesor guía Patricio Retamal y al Doctor Ezequiel Hidalgo a cargo de la investigación en el Parque Zoológico Buin Zoo y a mis profesores correctores Pedro Abalos y Cristóbal Briceño, por su buena disposición y trabajo. Además de agradecer a los médicos veterinarios participantes en el muestreo, MV Pilar Soto, MV Sebastián Celis y MV Sebastián Soto, y a mis compañeras de laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, por brindarme su apoyo en todo momento.

MEMORIA DE TÍTULO

“DETECCIÓN DE *Salmonella enterica* EN MAMÍFEROS Y AVES ACUÁTICAS DEL PARQUE ZOOLOGICO BUIN ZOO”

“*Salmonella enterica* detection in mammals and waterfowl at the Buin Zoo”.

Karen Espinoza Reyes *

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

Financiamiento

Este trabajo ha sido financiado por el Departamento de Conservación e Investigación del Parque Zoológico Buin Zoo y Fondecyt 11110398.

RESUMEN

Conocer la condición sanitaria de animales silvestres en cautiverio permite determinar el riesgo a enfermar al que se encuentran expuestos estos animales, pudiendo incluso producirse mortalidad en aquellos casos más extremos. Por otro lado, estos antecedentes también son necesarios para poder determinar el riesgo de infección de enfermedades zoonóticas al que se encuentra expuesta la población humana, que asiste a los recintos donde se encuentran estos animales. Esta información permite establecer las medidas sanitarias necesarias para asegurar el buen estado de salud tanto de los animales como de aquellos humanos que permanezcan en contacto directo o indirecto con ellos.

El objetivo de este trabajo fue detectar *Salmonella enterica* en muestras de animales pertenecientes al Parque Zoológico Buin Zoo (Región Metropolitana, Chile), para lo cual se colectaron tómulas rectales desde 201 mamíferos y tómulas cloacales desde 121 aves. Las tómulas fueron cultivadas y luego sometidas a PCR del gen *invA*. Dentro de la clase Mammalia se muestrearon 51 animales pertenecientes al orden Carnivora, 33 al orden Primates y 117 al orden Ungulata, lográndose aislar *S. enterica* a partir del 10,44% de las muestras, de las cuales un 42,21% perteneció al orden Ungulata. Dentro de la clase Aves, se obtuvieron muestras a partir de 9 animales pertenecientes al orden Pelecaniformes, 5 al orden Charadriiformes y 107 al orden Anseriformes, aislándose *S. enterica* a partir del 0,83% de las muestras.

Palabras clave: *Salmonella enterica*, animales, zoológico.

ABSTRACT

It is necessary to know the sanitary status of captive animals to determine the exposition risk of disease of these animals, which can even cause death in extreme cases. On the other hand, this information is needed to determine the risk of zoonotic infection for people who visit or work with those animals. The resulting data will help into adopting sanitary measures in order to ensure the health status of both, animals and humans being exposed by direct or indirect contact.

The aim of this work was to detect *Salmonella enterica* in animals belonging to the Buin Zoo (Metropolitan Region, Chile), through rectal swabs that were obtained from 201 mammals and cloacal swabs from 121 birds, which were cultured and *invA* gene detection by PCR. Within

the class Mammalia, there were sampled animals belonging to orders Carnivora (n = 51), Primates (n = 33) and Ungulata (n = 117). *S. enterica* strains were isolated from 10,44% of the samples, from which 42,21% belonged to the order Ungulata. Within the class Aves, samples were obtained from birds belonging to orders Pelecaniformes (n = 9), Charadriiformes (n = 5) and Anseriformes (n = 107). *S. enterica* was isolated from 0,83% of all the samples.

Key words: *Salmonella enterica*, animals, zoo.

INTRODUCCIÓN

Salmonella spp. es una bacteria gram negativa, bacilar y zoonótica, de elevada relevancia en la salud pública a nivel mundial, tanto en países en desarrollo, como en aquellos industrializados. Esta bacteria representa la mayor causa de enfermedad entérica tanto en el ser humano como en los animales (Chile, 2012; Sánchez-Vargas *et al.*, 2011). Este patógeno además de ser zoonótico, tiene la capacidad de infectar a numerosas especies, entre las que se encuentran animales de producción, animales de compañía y animales silvestres en ambientes naturales o artificiales (Oliveira *et al.*, 2010).

El género *Salmonella* spp. pertenece al orden Enterobacteriales y familia Enterobacteriaceae. Son bacilos gram negativos, intracelulares y anaerobios facultativos, generalmente móviles (Hatt *et al.*, 2009; Chile, 2012). Este género incluye sólo 2 especies: *S. bongori* y *S. enterica*. Esta última se encuentra constituida por las subespecies; (I) *enterica*, (II) *salamae*, (IIIa) *arizonae*, (IIIb) *diarizonae*, (IV) *houtenae*, e (VI) *indica*. A su vez, cada subespecie y serogrupo se encuentra conformado por múltiples serotipos (Hatt *et al.*, 2009). *S. enterica* contiene un importante gen de virulencia denominado gen *invA*, que se encuentra codificado en el cromosoma bacteriano, lo que le confiere mayor estabilidad. Este gen es un factor de virulencia asociado con el proceso de invasión del epitelio intestinal, siendo común en todas las variedades invasoras de *S. enterica* (Chacón *et al.*, 2010).

Esta bacteria es capaz de crecer en un amplio rango de temperaturas (7°C a 48°C) a un pH entre 4 y 8 (Hatt *et al.*, 2009), y puede desarrollar resistencia contra antimicrobianos. Así, *Salmonella* spp. es capaz de contaminar el ambiente y sobrevivir durante largos periodos de tiempo, estimándose una mayor presentación de brotes en los meses cálidos, tanto en humanos como en animales (Millán *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2010). Sin embargo, es muy sensible a los desinfectantes comunes como alcohol y jabón, siendo relativamente fácil su eliminación de la superficie de objetos inertes (Hatt *et al.*, 2009).

Entre los animales silvestres se ha detectado una gran cantidad de serotipos en todo el mundo. Adicionalmente, se ha demostrado que especies silvestres albergan cepas similares de *Salmonella* spp. a las encontradas en el ser humano, por lo que estos animales podrían actuar como reservorios y fuentes de infección del patógeno (Jardine *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2010). Respecto a esto, McMillian *et al.*, (2007) demostraron mediante un estudio realizado en Tennessee, que existe un riesgo real de infección con *Salmonella* para los visitantes de parques zoológicos, especialmente en aquellos establecimientos que permiten el contacto

directo entre humanos y animales. Considerando estos antecedentes, a partir del año 2012 se incorporó al plan de salud preventivo del parque zoológico Buin Zoo, la detección de *S. enterica*. Este parque zoológico se encuentra ubicado en la comuna de Buin, Región Metropolitana, contando con más de 2000 ejemplares de 250 especies diferentes.

Se ha descrito que la presencia de *Salmonella* spp. en animales silvestres podría cumplir un rol relevante en la transmisión de la bacteria hacia animales domésticos. Esto es importante si se considera la posibilidad de transmisión hacia animales utilizados con fines productivos, ya que podría originar impacto económico y sobre la salud pública, dada la relación existente entre *Salmonella* y productos comerciales de ave, carne y sobretodo huevos (Jardine *et al.*, 2011). Sin embargo, en el caso de un parque zoológico, los animales silvestres se encuentran cautivos, reduciéndose la posibilidad de contacto directo entre estas especies y aquellas con fines productivos.

Por otro lado, esta bacteria podría tener implicancias en la supervivencia de animales silvestres libres y/o en cautiverio. Los animales infectados pueden ser portadores asintomáticos y excretores intermitentes de la bacteria (principalmente durante las estaciones de primavera y verano), pudiendo generar contaminación ambiental generalizada y persistente, o bien, pueden enfermar manifestando síntomas clínicos (Keen *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2010; Uhart *et al.*, 2011).

El estudio epidemiológico de agentes patógenos en poblaciones cautivas, es fundamental para la implementación de programas de prevención, control y vigilancia de enfermedades, y para el desarrollo de políticas de salud pública y animal. Debido a sus implicancias, es importante conocer las características epidemiológicas de *Salmonella* spp. en parques zoológicos, que permitan desarrollar estrategias adecuadas para reducir el riesgo de diseminación de la bacteria entre animales y desde éstos hacia el ser humano (Jardine *et al.*, 2011; Viegas *et al.*, 2012).

Salmonella enterica tiene la capacidad de producir enfermedad tanto en humanos como en animales, denominándose a esta patología como salmonelosis (Jang *et al.*, 2008). La incubación del patógeno en los animales varía de 8 a 48 horas, presentándose en su mayoría como estados portadores asintomáticos. Sin embargo, puede presentarse signología clínica, entre la que se encuentra diarrea con o sin fiebre, vómitos ocasionales, aborto, osteomielitis y escasamente mortalidad (EAZA, 2003). Entre las medidas de control y prevención de *Salmonella* spp. descritas para los parques zoológicos, se incluye el control de roedores,

higiene rigurosa del establecimiento, exclusión de materias primas como los huevos y carne de pollo de la dieta de animales, manejo adecuado de los alimentos, uso de equipo de protección personal por parte de los empleados, y el aislamiento de los animales infectados, especialmente reptiles (EAZA, 2003; Viegas *et al.*, 2012).

La salmonelosis humana es una de las enfermedades zoonóticas, transmitidas por el consumo de alimentos, más importantes del mundo, estimándose en Estados Unidos 1,4 millones de casos clínicos y 582 muertes al año. Es más, la salmonelosis representa la principal causa de hospitalización derivada de infecciones de transmisión alimentaria en Estados Unidos, mientras que en España causan el 85% de las enteritis bacterianas alimentarias (Jardine *et al.*, 2011; Millán *et al.*, 2004). En relación con nuestra situación nacional, se han producido cambios desde 1990, observándose un descenso dramático de *S. typhi* y un aumento progresivo en la incidencia de *S. Enteritidis* (Chile, 2012). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad, pueden durar de 4 a 7 días e incluyen la aparición repentina de dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos desde 8 a 36 horas después de la exposición. En la mayoría de los casos la signología clínica desaparece sin recibir tratamiento, sin embargo, puede llegar a ser mortal en individuos de edades extremas, inmunocomprometidos y mujeres embarazadas (Jang *et al.*, 2008).

La transmisión de *S. enterica* hacia el ser humano puede ocurrir por varios mecanismos, siendo principalmente por vía oral-fecal mediante contacto directo o indirecto. La transmisión directa puede ocurrir a través del contacto y la alimentación de animales infectados, mientras que la transmisión indirecta se asocia al contacto con objetos inertes contaminados, o bien, mediante la ingesta de alimentos derivados de productos animales contaminados y la ingesta de agua contaminada (Oliveira *et al.*, 2010; Sánchez-Vargas *et al.*, 2011; Viegas *et al.*, 2012).

Esta bacteria ha sido aislada desde numerosas especies animales, incluidas aquellas de origen productivo. Los cerdos domésticos son portadores comunes de una amplia gama de serotipos de *S. enterica* en numerosos países (Fenwick *et al.*, 2004). Por otro lado, se ha descrito la presencia de la enfermedad en pollos, producto de la infección con *S. Gallinarum* (Oliveira *et al.*, 2010). En las granjas avícolas chilenas, *S. Enteritidis* es considerada una infección endémica, siendo un patógeno de declaración obligatoria para el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

Entre los años 1966 y 2000, en Estados Unidos, Reino Unido y Canadá, se han producido 11 brotes de *Salmonella* spp. asociados con exposiciones animales en zoológicos

que han sido publicados y 16 brotes no publicados, además de registrarse un aumento en la última década de los brotes asociados con exhibiciones de animales en Europa y América del Norte (Keen *et al.*, 2007). En Estados Unidos desde 1990 se han producido al menos cuatro brotes de *Salmonella* spp. en humanos a partir de animales en exhibición causados por *S. enterica* serovar Typhimurium y Enteritidis (Jang *et al.*, 2008). Es por esto que aunque los brotes zoonóticos en parques zoológicos o exposiciones de animales sean poco frecuentes, los visitantes y cuidadores se encuentran constantemente en riesgo de infección (Jang *et al.*, 2008). Considerando además que la mayoría de estas infecciones permanecen de forma clínicamente silente en los animales silvestres, los parques zoológicos deben considerar la implementación de un programa de prevención y detección microbiana precoz, en forma rutinaria (Keen *et al.*, 2007).

Entre los animales silvestres, *Salmonella* spp. ha sido aislada en numerosas ocasiones a partir de tracto gastrointestinal de reptiles. La transmisión de *Salmonella* spp. hacia los humanos desde reptiles en cautiverio ha sido ampliamente descrita, apreciándose un incremento de casos en los países occidentales producto de la creciente popularidad de los reptiles como mascotas (Hatt *et al.*, 2009; Jang *et al.*, 2008; Uhart *et al.*, 2011). Entre las subespecies implicadas se encuentran las subespecies I, II, IIIb y IV (Hatt *et al.*, 2009). En Chile, Sobarzo (2005), logró detectar *Salmonella* spp. a partir de 58 reptiles en cautiverio, correspondientes al 60,4% de los reptiles muestreados.

Otro grupo de animales silvestres cautivos en los que se ha descrito a menudo la infección son las aves, siendo *S. Enteritidis* y Typhimurium los serotipos más frecuentemente aislados. Informes existentes, sugieren la transmisión directa de *Salmonella* spp. desde aves silvestres hacia el ser humano y otros animales. Además, se describe que en algunas aves la bacteria puede producir signología clínica, causando incluso la muerte (Millán *et al.*, 2004).

Por otro lado, la presencia de este patógeno ha sido descrita en mamíferos, describiéndose también incluso en mamíferos marinos silvestres (Fenwick *et al.*, 2004; Sturm *et al.*, 2011).

Respecto a los mamíferos terrestres pertenecientes a zoológicos, se han realizado numerosos estudios sobre la detección de *Salmonella* spp. en animales asintomáticos, resumiéndose en la tabla 1.

En cuanto a la mortalidad de mamíferos terrestres pertenecientes a zoológicos, se han realizado numerosos estudios a partir de los cuales se ha aislado *Salmonella* spp., los que se encuentran resumidos en la tabla 2.

Finalmente, a nivel latinoamericano existen escasos estudios respecto a la prevalencia de *Salmonella* spp. en la fauna silvestre perteneciente a zoológicos. En un estudio realizado en Brasil por Viegas *et al.*, (2012), 29 carnívoros del Parque Zoológico del Parque Estatal Dos Hermanos fueron analizados. De este muestreo se aisló *Salmonella* spp. a partir de seis zorros cangrejeros (*Cerdocyon thous*) y un mapache austral (*Procyon cancrivorus*) sanos. Además, el autor describe otro estudio realizado en un zoológico de Sao Paulo, en el cual se logró aislar *Salmonella enterica* a partir de seis lobos de crin (*Chrysocyon brachyurus*), hallándose los serotipos Hadar, Enteritidis y Senftenberg.

El objetivo de este trabajo fue detectar e identificar la presencia de cepas de *Salmonella enterica* en mamíferos terrestres silvestres, mamíferos terrestres domésticos y aves acuáticas silvestres del parque zoológico Buin Zoo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

La población a muestrear incluyó animales de dos grandes grupos: aves acuáticas y mamíferos terrestres, pertenecientes al parque zoológico Buin Zoo. Entre los mamíferos se incluyeron animales de los órdenes Ungulata, Primates y Carnivora, mientras que entre las aves acuáticas se incluyeron los órdenes Pelecaniformes, Charadriiformes y Anseriformes, detallados en la tabla 3. El número de animales a muestrear de cada grupo, correspondió a 201 en el caso de la clase Mammalia y 121 en el caso de la clase Aves, obteniéndose en total 322 muestras representativas del 79,7% de la población zoológica de las clases mencionadas, detallados en la tabla 4. En el muestreo fueron incluidos animales sanos de diferente especie, sexo y edad.

Para detectar *Salmonella* spp., se incluyó dentro del plan preventivo existente en el parque zoológico, la toma de muestras rectales o cloacales, según corresponda a cada grupo. Para la realización de este procedimiento, los animales fueron manejados por personal capacitado del propio zoológico, bajo las normas de bioseguridad y bienestar animal determinadas por el establecimiento. La toma de muestras se realizó mediante el uso de tómulas estériles con medio de transporte Cary Blair (COPAN®), bajo supervisión estricta y constante del médico veterinario a cargo. Entre los manejos de bioseguridad, se incluyó el uso de guantes desechables, uso de mascarilla (principalmente para el manejo de primates), uso de traje clínico, desinfección del instrumental reciclable y del inmueble utilizado, eliminación del material cortopunzante en una caja de descarte y eliminación de desechos de peligro biológico de forma separada a los desechos comunes con los rótulos correspondientes para su identificación.

Una vez tomada la muestra, las tómulas se almacenaron a temperatura de refrigeración y fueron trasladadas a las dependencias del Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, en donde fueron procesadas.

Cultivo en Laboratorio

Para el procesamiento de las muestras, se mantuvieron ciertas normas de bioseguridad, entre las que se encuentra el uso de delantal, uso de guantes desechables y uso de campana de flujo laminar.

Para el pre-enriquecimiento, la tórula se introdujo en un tubo de ensayo estéril con 5 mL de mezcla de APT (agua peptonada fosfatada) + novobiocina (20 µg/mL), se agitó brevemente y se incubó a 37° C por 18 a 24 horas. Después de transcurrido este tiempo, los tubos fueron revisados para detectar aquellos en los que existiera crecimiento bacteriano. De éstos, se obtuvieron 100 µl los cuales se inocularon en agar semisólido MSR/V (agar modificado semisólido Rappaport Vassiliadis, Oxoid ®) con novobiocina (20 µg/mL), y se incubaron por 24 horas a 41,5° C. De las muestras que presentaron crecimiento sospechoso, se tomó una asada que fue sembrada por agotamiento en agar XLD (agar Xylose lysine deoxycholate, Difco ®), para luego ser incubadas a 37° C por 24 horas. Posteriormente, aquellas muestras en las que se observaron colonias negras o traslúcidas, fueron aisladas mediante siembra en agar XLD y McConkey.

PCR gen *invA*

Una vez aisladas las colonias se realizó un PCR estandarizado del gen *invA* (Chacón *et al.*, 2010).

Aquellas cepas que resultaron positivas a una banda de 289 pb en el PCR, fueron confirmadas mediante pruebas bioquímicas que incluyeron agar TSI (triple azúcar hierro), agar LIA (hierro lisina) y agar MIO (movilidad indol ornitina), según el método tradicional (Bailón *et al.*, 2010).

Finalmente, los resultados fueron tabulados para el análisis estadístico descriptivo de los mismos y la identificación de las especies infectadas en el parque zoológico Buin Zoo.

RESULTADOS

De las muestras analizadas, se aisló *S. enterica* a partir del 7,76% de los animales. Además, el 100% de las muestras a partir de las cuales se aisló *S. enterica*, correspondieron al serotipo Enteritidis.

Entre los animales desde los cuales se aisló la bacteria, el mayor número de individuos correspondió a mamíferos del orden Ungulata. Desde éstos se obtuvo una tasa de aislamiento del 17,95%, siendo el 100% de estos animales rumiantes, mientras que a partir de los órdenes Carnívora y Primates, se obtuvo una tasa de aislamiento de 3,92% y 3,03%, respectivamente. Entre las aves acuáticas muestreadas, solo se aisló *S. enterica* a partir de un individuo

perteneciente al orden Pelecaniformes. En la tabla 5 se aprecia un resumen de los órdenes y la tasa de detección obtenida durante el estudio.

Entre los animales a partir de los cuales se aisló *S. enterica*, destacan los mamíferos ungulados de las especies *Dama dama* y *Cervus elaphus*, desde los que se aisló la bacteria en el 100% de la población. En la tabla 6, se encuentran las especies animales a partir de las cuales se aisló *S. enterica*.

Ninguno de los animales muestreados tuvo signos clínicos antes o durante el muestreo, por lo que aquellos individuos desde los que se aisló *S. enterica* son considerados portadores asintomáticos.

DISCUSIÓN

Todos los animales del parque son alimentados con productos preparados en una cocina bajo estrictas normas de higiene, siendo distribuidos por los cuidadores de cada recinto en dispensadores cerrados para evitar la contaminación de los mismos durante el traslado. El agua ofrecida a los animales se encuentra debidamente clorada y es cambiada de forma periódica. Sin embargo, no se han realizado estudios sobre la presencia de patógenos en el agua, alimentos o en los establecimientos.

Tomando en consideración estos antecedentes, la fuente más probable de infección de *S. enterica* en los animales de este estudio, son la alimentación realizada con productos cárnicos crudos en el caso de los órdenes Carnivora y Pelecaniformes. Mientras que en el caso del orden Ungulata y Primate, la infección puede haber provenido de la contaminación cruzada con alimentos cárnicos, roedores o aves silvestres, capaces de ingresar a las instalaciones, o bien, por la alimentación de los animales por parte del público, fuentes principales de infección de acuerdo a lo expuesto por Gopee *et al.*, (2000). Sin embargo, no se puede descartar infección previa de algunos animales al momento de ingresar al parque zoológico, pudiendo ser estos mismos los diseminadores de la infección hacia otros animales.

Es importante considerar que en el caso de los primates la frecuencia de aislamiento de *Salmonella* spp. es escasa en animales de vida libre, mientras que es común el aislamiento a partir de primates en cautiverio (Gopee *et al.*, 2000).

No es extraño el bajo porcentaje de aislamiento de *Salmonella* a partir de aves acuáticas, siendo coincidente con los resultados de otros estudios en los que se aisló la bacteria con escasa frecuencia en estos animales (Gopee *et al.*, 2000). En el caso de este trabajo, la ausencia de detección en aves acuáticas no Pelecaniformes se puede deber a las condiciones de confinamiento de estos animales. Éstos cuentan con habitáculos totalmente cercados que impiden el acceso de otras aves, alimentación con alimento extruido comercial y/o rodeadas con lagunas artificiales cloradas.

Estos resultados son importantes, si consideramos los numerosos estudios que demuestran una elevada mortalidad de animales silvestres en cautiverio por salmonelosis. Por otro lado, considerando el gran potencial zoonótico de la bacteria queda de manifiesto un riesgo importante en la salud de visitantes, cuidadores y médicos veterinarios del parque (Jang *et al.*, 2008). Estos datos son aun más relevantes, si se considera que casi el 2% de los animales a partir de los que se aisló *Salmonella enterica* (n = 6), pertenecen a un área del parque que permite el contacto directo entre visitantes (incluyendo niños) y animales.

En comparación con otros estudios, el aislamiento de *S. enterica* a partir de mamíferos fue elevado en los órdenes Ungulata y Primates, en los que alcanzó el 5,1% y 2,27%, respectivamente (Millán *et al.*, 2004; Okoh y Onazi, 1980). En el orden Carnivora, el aislamiento fue mucho menor en comparación con otros estudios, en los que el aislamiento alcanza incluso un 94,4% (Clyde *et al.*, 1997). Respecto a las aves, la mayoría de los estudios incluye tanto a aves acuáticas como a terrestres, no diferenciando la especie. Dentro de los estudios que han diferenciado especies, Okoh y Onazi, (1980), aislaron *Salmonella* spp. desde el 0,3% de aves acuáticas muestreadas pertenecientes al orden Pelecaniformes. Otro estudio realizado por Millán *et al.*, (2004), obtuvieron un aislamiento del 8,5% a partir de aves acuáticas pertenecientes al orden Charadriiformes. Ambos estudios han obtenido tasas de infección comparativamente mayores a las obtenidas en el presente trabajo.

Es probable que el aislamiento de *Salmonella* spp. pueda estar subestimado debido a la excreción intermitente de la bacteria al medio ambiente mediante las heces. Esto podría explicar porque en individuos de una misma jaula se encuentra solo a uno infectado. Estos antecedentes demuestran la importancia de realizar nuevos muestreos para aislar la bacteria, de forma de determinar más fehacientemente la incidencia real de la infección y su comportamiento epidemiológico.

Los antecedentes expuestos en este trabajo dejan en claro la necesidad de generar mejores prácticas higiénicas en trabajadores y visitantes en el parque zoológico Buin Zoo, con el fin de minimizar la probabilidad de transmisión tanto entre animales, como desde estos a los humanos. Entre las medidas posibles para evitar la transmisión de *Salmonella* spp., se pueden mencionar: prohibición de ingreso de alimentos o bebidas a las áreas de contacto del zoológico, promover el uso de lavamanos y desinfectantes, antes y después del contacto directo con algún animal del recinto y excluir a los animales portadores de la bacteria en áreas de contacto, entre otros (Jeffrey y Davis, 2004).

Finalmente, con este trabajo queda de manifiesto la necesidad de generar nuevos estudios para el aislamiento de *Salmonella* spp. en el parque zoológico Buin Zoo. Estos monitoreos deberían incluir muestreos seriados desde animales, con el fin de determinar un tratamiento adecuado, además de muestreos a partir de alimentos, recintos y animales nativos que pudieran mantener contacto directo con los animales del parque.

REFERENCIAS

- **BAILÓN, L.; GONZÁLEZ, R.; CERVANTES, A.** 2010. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. Zaragoza, México. Universidad Nacional Autónoma de México, Fac. de Estudios Superiores Zaragoza. 209 p.
- **CHACÓN, L.; BARRANTES, K.; GARCÍA, C.; ACHÍ, R.** 2010. Estandarización de una PCR para la Detección del Gen *invA* de *Salmonella* spp. en Lechuga. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 30: 18-23.
- **CHILE. MINISTERIO DE SALUD.** 2012. Boletín Laboratorio y Vigilancia al Día. Instituto de Salud Pública de Chile-Departamento de Asuntos Científicos. 12 de junio 2012.
- **CLYDE, V.; RAMSAY, E.; BEMIS, D.** 1997. Fecal Shedding of *Salmonella* in Exotic Felids. J. Zoo Wildl. Med. 28(2): 148-152.
- **DUNCAN, M.; NICHOLS, D.; MONTALI, R.** 1994. An Epizootic of *Salmonella enteritidis* at the National Zoological Park. Proc. Amer. Assoc. Zoo Vet. 1: 246-248.
- **EAZA (EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOOS AND AQUARIA).** 2003. Transmissible Disease Fact Sheet: Salmonellosis. Eu. Assoc. Zoo. Aqu. (93): 1-3.
- **FENWICK, S.; DUIGNAN, P.; NICOL, C.; LEYLAND, M.; HUNTER, J.** 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.
- **FOREYT, W.; BESSER, T.; LONNING, S.** 2001. Mortality in Captive Elk from Salmonellosis. J. Wildl. Dis. 37(2): 399-402.
- **GOPEE, N.; ADESIYUN, A.; CAESAR, K.** 2000. Retrospective and Longitudinal Study of Salmonellosis in Captive Wildlife in Trinidad. J. Wildl. Dis. 36(2): 284-293.
- **HATT, J.; FRUTH, A.; RABSCH, W.** 2009. Reptile-associated Salmonellosis – Information Update for Veterinarians. Tierärztl. Prax. K. 37(3): 188-193.

- **JANG, Y.; LEE, S.; LIM, J.; LEE, H.; KIM, T.; PARK, J.; CHUNG, B.; CHOE, N.** 2008. The Rate of *Salmonella* spp. Infection in Zoo Animals at Seoul Grand Park, Korea. J. Vet. Sci. 9(2): 177-181.
- **JARDINE, C.; REID-SMITH, R.; JANECKO, N.; ALLAN, M.; MCEWEN, S.** 2011. *Salmonella* in Raccoons (*Procyon lotor*) in Southern Ontario, Canada. J. Wildl. Dis. 47(2): 344-351.
- **JEFFREY, L.; DAVIS, M.** 2004. Outbreaks of Zoonotic Enteric Disease Associated with Animal Exhibits. J. Am. Vet. Med. Assoc. 229(9): 1440-1445.
- **KEEN, J.; DURSO, L.; MEEHAN, T.** 2007. Isolation of *Salmonella enterica* and Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* O157 from Feces of Animals in Public Contact Areas of United States Zoological Parks. Appl. Environ. Microbiol. 73(1): 362-365.
- **KENNY, D.; BAIER, J.; GETZY, D.** 1997. Salmonellosis in Captive Black Rhinoceroses (*Diceros bicornis*). J. Zoo Wildl. Med. 28(3): 307-311.
- **LEWIS, C.; BEMIS, D.; RAMSAY, E.** 2002. Positive Effects of Diet Change on Shedding of *Salmonella* spp. in the Feces of Captive Felids. J. Zoo Wildl. Med. 33(1): 83-84.
- **MCMILLIAN, M.; DUNN, J.; KEEN, J.; BRADY, K.; JONES, T.** 2007. Risk Behaviors for Disease Transmission Among Petting Zoo Attendees. J. Am. Vet. Med. Assoc. 231(7): 1036-1038.
- **MILLÁN, J.; ADURIZ, G.; MORENO, B.; JUSTE, R.; BARRAL, M.** 2004. *Salmonella* Isolates from Wild Birds and Mammals in the Basque Country (Spain). Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 23(3): 905-911.
- **MILLER, M.; SCHILLE, B.; PANCAKE, C.** 2008. *Salmonella* Surveillance in a Herd of Asymptomatic Captive Black Rhinoceros (*Diceros bicornis*) Using Fecal Culture and PCR. J. Zoo Wildl. Med. 39(1): 56-60.
- **OCHOLI, R.; ENURAH, L.; ODEYEMI, P.** 1987. Fatal Case of Salmonellosis (*Salmonella pullorum*) in a Chimpanzee (*Pan troglodytes*) in the Jos Zoo. J. Wildl. Dis. 23(4): 669-670.

- **OKOH, A.; ONAZI, M.** 1980. Notes on Salmonellae Isolated from Wildlife in Kano Zoological Gardens. *J. Wildl. Dis.* 16(1): 7-10.
- **OLIVEIRA, M.; PEDROSO, N.; SALES-LUÍS, T.; SANTOS-REIS, M.; TAVARES, L.; LOBO, C.** 2010. Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Isolated from Eurasian Otters (*Lutra lutra* Linnaeus, 1758) in Portugal. *J. Wildl. Dis.* 46(4): 1257-1261.
- **SÁNCHEZ-VARGAS, F.; ABU-EL-HAIJA, M.; GÓMEZ-DUARTE, O.** 2011. *Salmonella* Infections: An Update on Epidemiology, Management, and Prevention. *Travel Med. Infect. Dis.* (9): 263-277.
- **SOBARZO, G.** 2005. Detección y Sensibilidad Antimicrobiana de Cepas de *Salmonella* spp de Reptiles y Aves Exóticas en Cautiverio. Memoria Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 40 p.
- **SPECK, S.; PAULY, A.; STARK, R.** 2007. Fatal Case of *Salmonella* Typhimurium Infection in a Cherry Crowned Mangabey (*Cercocebus torquatus*). *Verh. Ber. Erkr. Zootiere.* 43: 321-324.
- **STIRLING, J.; GRIFFITH, M.; BLAIR, I.; CORMICAN, M.; DOOLEY, J.; GOLDSMITH, C.; GLOVER, S.; LOUGHREY, A.; LOWERY, C.; MATSUDA, M.; MCCLURG, R.; MCCORRY, K.; MCDOWELL, D.; MCMAHON, A.; MILLAR, B.; NAGANO, Y.; RAO, J.; ROONEY, P.; SMYTH, M.; SNELLING, W.; XU, J.; MOORE, J.** 2008. Prevalence of Gastrointestinal Bacterial Pathogens in a Population of Zoo Animals. *Zoonoses Public Health.* 55: 166-172.
- **STURM, N.; ABALOS, P.; FERNANDEZ, A.; RODRIGUEZ, G.; OVIEDO, P.; ARROYO, V.; RETAMAL, P.** 2011. *Salmonella enterica* in Pinnipeds, Chile. *Emerg. Infect. Dis.* 17(12): 2377-2378
- **UHART, M.; FERREYRA, H.; MATTIELLO, R.; CAFFER, M.; TERRAGNO, R.; SCHETTINO, A.; PRADO, W.** 2011. Isolation of *Salmonella* spp. from Yacare Caiman (*Caiman yacare*) and Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*) from the Argentine Chaco. *J. Wildl. Dis.* 47(2): 271-277.
- **VIEGAS, D.; BARRETO, D.; APARECIDO, R.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L.; SILVA, D.; SOUZA, A.; BENTO, L.** 2012. Microbiologia de Swabs Retais e Otológicos

em Carnívoros Silvestres do Zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.* 32(2): 159-164.

- **WOLF, T.; WÜNSCHMANN, A.; MORNINGSTAR-SHAW, B.; PANTLIN, G.; RASMUSSEN, J.; THOMPSON, R.** 2011. An Outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis in Goitered Gazelle (*Gazella subgutturosa subgutturosa*) and Malayan Tapir (*Tapirus indicus*). *J. Zoo Wildl. Med.* 42(4): 694-699.

TABLAS

Tabla 1: Serotipos de *Salmonella* spp. aislados desde mamíferos terrestres asintomáticos pertenecientes a zoológicos.

Serotipo	Especie Afectada	Referencia
S. Epicrates	Gacela (<i>Nanger granti</i> y <i>Eudorcas thomsonii</i>)	Okoh y
S. Vejle	Canguro (<i>Marcropus rufus</i>)	Onazi,
S. Durban	Gálago (<i>Galago demidovii</i>)	(1980)
S. Oranienburg	Hiena (<i>Hyaena hyaena</i>)	
S. Chandans y S. Rissen	Cheetah (<i>Acinonyx jubatus</i>)	
S. Vejle	León (<i>Panthera leo</i>)	
S. Elizabethville y S. Liverpool	Chimpancé (<i>Pan troglodytes</i>)	
No determinado	Zorro (<i>Vulpes vulpes</i>)	
S. Dublin	Jirafa (<i>Giraffa camelopardalis</i>)	
S. Typhimurium	Tigre (<i>Panthera tigris</i>)	Gopee et al.,
S. Typhimurium	Puercoespín arborícola (<i>Coendou prehensilis</i>)	(2000)
S. Enteritidis	Guazo (<i>Mazama americana trinitalis</i>)	
No determinado	Conejo (<i>Dryctolagus cuniculus</i>)	
S. Dublin	Tigre (<i>P. tigris</i>)	Stirling et al., (2008)
S. Typhimurium	Mapache (<i>Procyon lotor</i>)	Jardine et al., 2011
S. Uganda	Leopardo de las Nieves (<i>Panthera uncia</i>)	Lewis et al., 2002
S. Miami	Rinoceronte negro (<i>Diceros bicorni</i>)	Miller et al., 2008

Tabla 2: Signología clínica y mortalidad de mamíferos terrestres pertenecientes a zoológicos, a partir de los cuales se aislaron diferentes serotipos de *Salmonella* spp.

Serotipo	Especie Afectada	Signos clínicos	Referencia
S. Pullorum	1 Chimpancé (<i>Pan troglodytes</i>)	Diarrea constante, anorexia y muerte	Ocholi <i>et al.</i> , (1987)
S. <i>enterica</i> subespecie <i>arizonae</i>	3 Rinocerontes negros (<i>Diceros bicorni</i>)	Anorexia, letargia, diarrea y epistaxis, produciéndose en dos de ellos la muerte	Kenny <i>et al.</i> , (1997)
S. Typhimurium	13 Ciervos de las Montañas Rocosas (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	Diarrea, fiebre, letargo, anorexia, depresión y mortalidad en 8 de ellos	Foreyt <i>et al.</i> , (2001)
S. Typhimurium	3 Mangabey de collar (<i>Cercocebus torquatus</i>)	Muerte abrupta en todos los individuos	Speck <i>et al.</i> , (2007)
S. Enteritidis	3 Erizos de Madagascar (<i>Echinops telfain</i>)	Letargia, dificultad respiratoria y muerte en todos los individuos	Duncan <i>et al.</i> , (1994)
	11 Ratón Egipcio Espinoso (<i>Acomys dimidiatus</i>)	Conjuntivitis, disnea y muerte en todos los individuos	
	3 Musaraña (<i>Tupaia minor</i>)	Muerte abrupta en todos los individuos	
S. Chorelasuis	2 Gacela Persa (<i>Gazella subgutrosa</i>)	Diarrea, edema submandibular, con muerte de 1 individuo	Wolf <i>et al.</i> , (2011)
	1 Tapir Malayo (<i>Tapirus indicus</i>)	Fiebre, diarrea y muerte	

Tabla 3: Lista de especies y número de individuos de la clase Mammalia y Aves del parque zoológico Buin Zoo, correspondientes a la población total de muestreo.

Clase	Orden	Nombre común	Nombre científico	Nº total animal por especie	
Mammalia	Carnivora	Lobo de Crin	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	10	
		Quique	<i>Galactis cuja</i>	1	
		Mofeta	<i>Mephitis mephitis</i>	7	
		Suricata	<i>Suricata suricatta</i>	8	
		Lobo Europeo	<i>Canis lupus</i>	4	
		Gineta	<i>Genetta genetta</i>	5	
		Zorro Culpeo	<i>Pseudalopex culpaeus</i>	7	
		León	<i>Panthera leo</i>	1	
		Mapache	<i>Procyon lotor</i>	5	
		Puma	<i>Felis concolor</i>	1	
		Tigre	<i>Panthera tigris</i>	2	
		Primate	Mono Araña	<i>Ateles geoffroyi</i>	4
			Mono Aullador	<i>Alouatta caraya</i>	5
			Mono Barrigudo	<i>Lagothrix lagotricha</i>	1
	Lémur Cola Anillada		<i>Lemur catta</i>	2	
	Mono Colobo		<i>Colobus guereza</i>	2	
	Mono Papión	<i>Papio hamadryas</i>	7		
	Mono Cai Común	<i>Cebus apella</i>	10		

		Siamang	<i>Symphalangus syndactylus</i>	2
	Ungulata	Gacela de Thompson	<i>Eudorcas thomsonii</i>	14
		Tapir	<i>Tapirus terrestris</i>	4
		Antílope Sitatunga	<i>Tragelaphus spekii</i>	1
		Pudú	<i>Pudu puda</i>	1
		Antílope Nyala	<i>Tragelaphus angasii</i>	3
		Jabalí	<i>Sus scrofa</i>	12
		Ciervo Dama	<i>Dama dama</i>	12
		Ciervo Rojo	<i>Cervus elaphus</i>	4
		Muflón	<i>Ovis orientalis musimon</i>	21
		Alpaca	<i>Vicugna pacos</i>	15
		Guanaco	<i>Lama guanicoe</i>	3
		Llama	<i>Lama glama</i>	5
		Capibara	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	1
		Cebra Común	<i>Equus burchellii</i>	1
		Oveja Somalí	<i>Ovis ammon aries</i>	9
		Oveja Doméstica	<i>Ovis aries</i>	11
Aves	Pelecaniformes	Pelícano Pardo	<i>Pelecanus occidentalis</i>	7
		Pelícano Africano	<i>Pelecanus Rufescens</i>	2
	Charadriiformes	Gaviota Dominicana	<i>Larus Dominicanus</i>	4
		Gaviota Andina	<i>Larus serranus</i>	1
	Anseriformes	Cisne Cuello Negro	<i>Cygnus melancoryphus</i>	9

Cisne Coscoroba	<i>Coscoroba coscoroba</i>	13
Caiquén	<i>Chloephaga picta</i>	6
Barnacla Cuello Rojo	<i>Branta ruficollis</i>	4
Canquén Colorado	<i>Chloephaga rubidiceps</i>	4
Canquén	<i>Chloephaga poliocephala</i>	2
Pato Pintail	<i>Aythya acuta</i>	1
Pato Carolina	<i>Aix sponsa</i>	8
Pato Espejo	<i>Callonetta leucophrys</i>	4
Pato Negro	<i>Cairina moschata</i>	3
Pato Jergón	<i>Anas eórgica</i>	3
Pato Gargantilla	<i>Anas bahamensis</i>	3
Pato Silbón	<i>Anas penelope</i>	1
Pato Real Chileno	<i>Anas sibilatrix</i>	2
Ganso Monja	<i>Branta leucopsis</i>	4
Pato Cuchara Australiano	<i>Anas rhynchotis</i>	2
Pato Porrón Pardo	<i>Aythya nyroca</i>	5
Pato Porrón Bastardo	<i>Aythya marila</i>	5
Pato Mandarín	<i>Aix galericulata</i>	2
Ganso Índico	<i>Anser indicus</i>	2
Pato Falcata	<i>Anas falcata</i>	1

Cisne Negro	<i>Cygnus atratus</i>	1
Cisne Mudo	<i>Cygnus olor</i>	4
Pato Chestnut	<i>Anas castanea</i>	3
Pato Porrón Australiano	<i>Aythya australis</i>	9
Pato Tardona	<i>Tadorna cana</i>	6

Tabla 4: Fracción de muestreo según órdenes, en base a existencias del Buin Zoo durante los meses de junio a diciembre de 2012.

Grupos	Orden	Nº total animales	Nº animales a muestrear	% animales a muestrear
Mamíferos	Ungulata	120	117	97,5
	Primates	53	33	62,26
	Carnivora	107	51	47,66
Aves Acuáticas	Pelecaniformes	9	9	100
	Charadriiformes	5	5	100
	Anseriformes	110	107	97,27

Tabla 5: Aislamiento de *S. enterica* a partir de mamíferos terrestres y aves acuáticas pertenecientes al Parque Zoológico Buin Zoo

Orden	Nº de muestras	Nº Cepas Detectadas	Tasa de Detección (%)
Carnivora	51	2	3,92
Ungulata	117	21	17,95
Primate	33	1	3,03
Anseriformes	107	0	0
Charadriiformes	5	0	0
Pelecaniformes	9	1	11,11

Tabla 6: Especies animales pertenecientes al Parque Zoológico Buin Zoo, a partir de las cuales se aisló *S. enterica*

Orden	Especie	Nº Cepas Detectadas
Carnivora	<i>Panthera leo</i>	1
	<i>Pseudalopex culpaeus</i>	1
Ungulata	<i>Dama dama</i>	12
	<i>Cervus elaphus</i>	3
	<i>Ovis ammon aries</i>	2
	<i>Ovis aries</i>	3
Primate	<i>Cebus apella</i>	1
Pelecaniformes	<i>Pelecanus occidentalis</i>	1