

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO



CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Salmonella enterica* Y *Escherichia coli* PRODUCTORA DE SHIGATOXINA (STEC) EN SISTEMAS PRODUCTIVOS DE TRASPATIO DE LAS REGIONES DE VALPARAÍSO Y METROPOLITANA

CONSTANZA ANDREA URZÚA ENCINA

Tesis para optar al
Grado de Magíster en
Ciencias Animales y Veterinarias

SANTIAGO – CHILE

2022

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO



CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Salmonella enterica* Y *Escherichia coli* PRODUCTORA DE SHIGATOXINA (STEC) EN SISTEMAS PRODUCTIVOS DE TRASPATIO DE LAS REGIONES DE VALPARAÍSO Y METROPOLITANA

CONSTANZA ANDREA URZÚA ENCINA

Tesis para optar al
Grado de Magíster en
Ciencias Animales y Veterinarias

PATRICIO RETAMAL MERINO, Lic., Ms., PhD.

RAÚL ALEJANDRO ALEGRÍA MORÁN, Lic., Ms., PhD.

SANTIAGO – CHILE

2022

INFORME APROBACIÓN TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Dirección de Posgrado y Postítulo de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias que la Tesis de Magíster presentada por la candidata:

Constanza Andrea Urzúa Encina

“Caracterización de aislados de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC) en sistemas productivos de traspatio de las regiones de Valparaíso y Metropolitana”.

Ha sido aprobada por la Comisión Evaluadora como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias en Examen de Defensa de tesis rendido el día _____ de marzo del año 2022.

Patricio Retamal M.

Raúl Alegría M.

Pedro Ábalos P.

Lisette Lapierre A.

André Rubio C.

DEPARTAMENTO Y FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El desarrollo de esta tesis se llevó a cabo por la Unidad de Epidemiología de Patógenos Zoonóticos del Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria de la Dirección de Investigación en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Parte de los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Interacción Hospedero-Patógeno y el Laboratorio de Diagnóstico de Agentes Infecciosos del Departamento de Medicina Preventiva de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Esta tesis fue financiada por el proyecto FONDECYT 11180476. Mis estudios fueron financiados, en parte, con una beca interna otorgada por el comité académico de la Escuela de Postgrado y Postítulo de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

DEDICATORIA

*A mi querido padre,
no alcanzaste a ver este momento,
pero sin ti no habría sido posible.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mi padre Andrés y mi madre Viviana, quienes me permitieron crecer, estudiar y forjar mi propio camino. Los frutos del presente son gracias a ellos. Por supuesto el agradecimiento se extiende a mi hermano Andrés y a mi familia, a todos quienes me apoyaron, me guiaron, me escucharon y animaron a seguir. Este agradecimiento va especialmente para mi tía Claudia y Carlos, quienes abrieron las puertas de su hogar para acogerme en tiempos difíciles. A mi tía Sandra y a mi abuela María, quienes me han apoyado en distintos ámbitos de mi vida y especialmente tras la partida de mi padre. Extiendo este agradecimiento a aquellos seres que sin decirme una palabra siempre llenaron mi corazón de alegría, especialmente a Foca, Kayser y Lonco.

El trayecto es largo y muchas personas estuvieron en mi vida universitaria, le agradezco a todas ellas y ellos, a mis amistades de pregrado y de postgrado por hacer más amena mi estadía en la Universidad, por tenerme tanta paciencia y por enseñarme a tener distintos puntos de vista y valorar los pequeños momentos. Sin embargo, debo destacar a mi mejor amigo, mi pilar fundamental, mi pareja Rodrigo, quien me brindó todo su apoyo y cariño en cada proyecto que emprendí.

Quisiera agradecer a los docentes que facilitaron mi aprendizaje y el descubrimiento de mis intereses en esta carrera tan diversa. Agradezco principalmente al Dr. Raúl Alegría por permitirme ser parte de su proyecto FONDECYT, por apoyarme y entenderme en un momento complejo de mi vida, por darse el tiempo de aconsejarme, de guiarme, de enseñarme y por confiar en mí y en el trabajo que estaba realizando. Agradezco también al Dr. Patricio Retamal por brindarme su apoyo y sus conocimientos en distintas materias, agradezco su acogida y su tiempo. Agradezco a la Dra. Galia Ramírez por sus consejos y apoyo en lo personal y académico, además de la confianza que depositó en mí.

Por último, y no menos importante, quisiera agradecer a mi equipo de trabajo por lo gratas que hicieron las salidas a terreno y toda la buena energía, tiempo y apoyo que me brindaron durante este proceso, especialmente a Erika, Bastián y nuevamente al Dr. Alegría.

INDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción.....	1
2. Revisión Bibliográfica	2
2.1. Sistemas Productivos de Traspatio	2
2.1.1 Contexto nacional.....	3
2.1.2 Uso de antimicrobianos	4
2.2. <i>Salmonella enterica</i>	5
2.2.1 Características del agente.....	5
2.2.2 Transmisión.....	6
2.2.3 <i>Salmonellas</i> no tíficas.....	7
2.2.4 Reservorios	8
2.3. <i>Escherichia coli</i> productora de Shigatoxina	8
2.3.1 Características del agente.....	8
2.3.2 Transmisión.....	9
2.3.3 Cuadro clínico	9
2.3.4 Reservorios	10
2.4. Importancia en salud pública	11
2.4.1 Vigilancia epidemiológica de <i>S. enterica</i>	11
2.4.2 Vigilancia epidemiológica de STEC.....	13
3. Objetivos:	16
3.1 Objetivo general:.....	16
3.2 Objetivos específicos:.....	16
4. Hipótesis de Trabajo	17

5.	Materiales y Métodos	18
5.1.	Cálculo de tamaño muestral	18
5.2.	Toma de muestras.....	20
5.3.	Detección de <i>S. enterica</i> y <i>E. coli</i> productora de Shigatoxina	20
5.3.1	<i>Salmonella enterica</i>	20
5.3.2	<i>Escherichia coli</i> productora de Shigatoxina.....	21
5.4.	Objetivo específico 1	21
5.4.1	Determinación de la tasa de positividad de <i>S. enterica</i> y/o STEC.....	22
5.5.	Objetivo específico 2	22
5.5.1	Determinación de distribución espacial	22
5.5.1	Determinación de factores de riesgo para la positividad de <i>Salmonella enterica</i> y/o STEC	25
5.6.	Objetivo específico 3	27
6.	Resultados	29
6.1.	Determinar la tasa de positividad de <i>S. enterica</i> y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana	29
6.1.1.	Tasa de positividad de <i>S. enterica</i> en SPT.....	29
6.1.2.	Tasa de positividad de STEC en SPT	30
6.1.3.	Tasa de positividad de Enterobacterias en SPT.....	32
6.2.	Determinar los factores de riesgo y la distribución espacial de <i>S. enterica</i> y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana.....	35
6.2.1.	Análisis de distribución espacial.....	35
6.2.2.	Factores de riesgo.....	40
6.2.2.1.	Factores de riesgo para la positividad de <i>S. enterica</i> en SPT	40
6.2.2.2.	Factores de riesgo para la positividad de STEC en SPT.....	41

6.2.2.3. Factores de riesgo para la positividad de Enterobacterias en SPT	42
6.3. Determinar el perfil de resistencia a antimicrobianos en aislados de <i>S. enterica</i> y STEC provenientes de SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana.....	42
7. Discusión de Resultados	45
8. Conclusiones.....	54
9. Recomendaciones.....	55
10. Bibliografía	56
11. Anexos	71
Anexo 1: Certificado de bioseguridad FAVET-UCHile.....	71
Anexo 2: Certificado de bioética CICUA-UCHile	72
Anexo 3: Protocolo cultivo de <i>S. enterica</i>	73
Anexo 4: Partidores de PCR para <i>S. enterica</i>	74
Anexo 5: Protocolo de cultivo y Partidores de PCR de STEC	74
Anexo 6: Cuestionario	76
Anexo 7: Consentimiento informado.....	80

ÍNDICE DE AYUDAS ILUSTRATIVAS

Tabla 1. Sistemas productivos de traspatio muestreados por provincia.	29
Tabla 2. Tasa de positividad de SPT a <i>S. enterica</i> y/o STEC en provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso muestreados entre los años 2019 y 2020.	34
Tabla 3. Especies animales involucradas en la positividad de <i>S. enterica</i> y STEC en SPT según región y provincia.	34
Tabla 4. <i>Clusters</i> espaciales de alto y bajo número de casos de sistemas productivos de traspatio positivos a <i>S. enterica</i> , STEC o enterobacterias.	35
Tabla 5. Análisis de indicadores locales de autocorrelación espacial de las provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso, positivas a <i>S. enterica</i> , STEC y Enterobacterias.	39
Tabla 6. Modelo de factores de riesgo asociados a la positividad de <i>S. enterica</i> en SPT.	40
Tabla 7. Modelo de factores de riesgo para la positividad a <i>Escherichia coli</i> productora de Shigatoxina en SPT.	41
Tabla 8. Modelo de factores de riesgo para la positividad de Enterobacterias (<i>S. enterica</i> y STEC) en sistemas productivos de traspatio.	42
Tabla 9. Perfiles de resistencia antimicrobiana identificados en los aislados de <i>S. enterica</i> y STEC, según los resultados de MIC.	43
Figura 1. Distribución espacial de la tasa de positividad a <i>S. enterica</i> por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile.	30
Figura 2. Distribución espacial de la tasa de positividad a STEC por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile. La provincia de Quillota presenta una tasa	

de positividad de 0% por la imposibilidad de muestreo asociado a las restricciones sanitarias.	32
Figura 3. Distribución espacial de la tasa de positividad a Enterobacterias por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile.....	33
Figura 4. <i>Clusters</i> espaciales de <i>S. enterica</i> , STEC o Enterobacterias en animales criados en sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile.....	37
Figura 5. <i>Cluster</i> de alto número de casos para Enterobacterias en la provincia de Cordillera, región Metropolitana, Chile.....	38
Figura 6. <i>Clusters</i> de indicadores locales de autocorrelación espacial (LISA) de las provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso, positivas a <i>S. enterica</i> (A), STEC (B) y Enterobacterias (C).	39
Ecuación 1. Tamaño de muestra para la determinación de una proporción.	19
Ecuación 2. Tamaño de muestra intra-SPT.	19
Ecuación 3. Para calcular la prevalencia de una enfermedad.	22
Ecuación 4. Para el cálculo del índice I de Morán.	23

RESUMEN

Los sistemas productivos de traspatio (SPT) se encuentran ampliamente distribuidos, especialmente en zonas rurales, siendo una fuente común y barata de alimento para los hogares rurales. Las especies animales criadas en estos sistemas son reconocidas como reservorios de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC), ambos patógenos zoonóticos y ubicuos, que pueden causar enfermedad grave en poblaciones de riesgo. El objetivo de este estudio fue caracterizar epidemiológicamente los aislados de ambos patógenos obtenidos de heces de animales criados en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana de Chile, muestreados entre los años 2019 y 2020. Cada SPT muestreada fue georreferenciada y se aplicó un cuestionario para recoger información epidemiológica. La presencia o ausencia de los patógenos se determinó mediante cultivo bacteriano y PCR confirmatorio, determinando la tasa de positividad a nivel nacional, regional y provincial. Se utilizó regresión logística multivariable para determinar la existencia de factores de riesgo asociados a la positividad de los patógenos en SPT. Se determinó la agrupación espacial de los SPT positivos mediante autocorrelación espacial y estadística de escaneo. Además, se determinaron los fenotipos de resistencia antimicrobiana de aislados recuperados. Se determinó una tasa de positividad de 2.88% de *S. enterica* y de 14.39% para STEC en ambas regiones. El 80% de los aislados de *S. enterica* recuperados eran multiresistentes, y todos los de STEC eran resistentes a Cefalexina. No se identificaron *clusters* espaciales. El análisis de factores de riesgo sugiere que el contacto de los animales del SPT con aves silvestres (OR = 0.06; IC-95% = 0,00 – 0.064; p = 0.02) disminuye el riesgo de positividad a *S. enterica* en SPT; la presencia de rumiantes (OR = 1.03; IC-95% = – 1.07; p = 0.036) incrementa el riesgo de positividad a STEC en el SPT; y la presencia de rumiantes (OR = 1.05; IC-95% = 1.02 – 1.09; p = 0.004) y que el manejo de los animales dependa exclusivamente de una mujer (OR = 3.54; IC-

95% = 1.03 – 12.19; $p = 0.045$) son factores que aumentan el riesgo de positividad a *Enterobacteriaceae*. Este estudio evidencia la circulación de cepas de *Enterobacteriaceae* zoonóticas multirresistentes en animales mantenidos en SPT; la presencia de factores que modifican el riesgo de positividad en SPT para estos patógenos; y la relevancia de los análisis espaciales para detectar *clusters* espaciales.

Palabras clave: *S. enterica*; STEC; Factores de riesgo; Resistencia antimicrobiana; Tasa de positividad; Análisis espacial; Sistema productivo de traspatio.

ABSTRACT

Backyard production systems (BPS) are widely distributed, especially in rural areas, being a common and cheap source of food for rural households. Animal species raised in these systems are recognized as reservoirs of *Salmonella enterica* and Shigatoxin-producing *Escherichia coli* (STEC), both ubiquitous zoonotic pathogens, which can cause severe disease in at-risk populations. The aim of this study was to epidemiologically characterize isolates of both pathogens obtained from feces of animals raised in BPS from the Valparaíso and Metropolitana regions of Chile, sampled between 2019 and 2020. Each sampled BPS was georeferenced, and a questionnaire was applied in order to collect epidemiological information. The presence or absence of pathogens was determined by bacterial culture and confirmatory PCR, calculating positivity rates at national, regional and provincial level. Multivariate logistic regression was used to determine the existence of risk factors associated with pathogen positivity in BPS. Spatial clustering of positive BPS was determined using spatial autocorrelation and scanning statistics. In addition, antimicrobial resistance phenotypes were determined for the recovered isolates. A positivity rate of 2.88% for *S. enterica* and 14.39% for STEC was determined in both regions. Eighty percent of recovered *S. enterica* isolates were multidrug resistant, and all STEC were resistant to Cephalexin. No spatial clusters were identified. Risk factor analysis suggests that contact of BPS animals with wild birds (OR = 0.06; 95%CI = 0.00 - 0.064; $p = 0.02$) decreases the risk to *S. enterica* positivity in BPS; the presence of ruminants (OR = 1.03; 95%CI = - 1.07; $p = 0.036$) increases the risk of STEC-positive BPS; and the presence of ruminants (OR = 1.05; 95%CI = 1.02 - 1.09; $p = 0.004$) and that the animal handler is exclusively female (OR = 3.54; 95%CI = 1.03 - 12.19; $p = 0.045$) are factors that increase the risk for Enterobacteriaceae positivity. This study evidences the circulation of multidrug resistant zoonotic *Enterobacteriaceae* strains in animals kept in BPS; the

presence of factors that modify the risk of BPS positivity for these pathogens; and the relevance of spatial analyses to detect spatial clusters.

Key words: *S. enterica*; STEC; Risk factors; Antimicrobial resistance; Positivity rate; Spatial analysis; Backyard production system.

1. Introducción

La producción animal se realiza a distintas escalas productivas, siendo los sistemas productivos de traspatio (SPT) los más frecuentes. Estos se caracterizan por criar grupos reducidos de diversas especies animales en sus hogares, utilizando sistemas poco tecnificados y aplicando escasas medidas de bioseguridad.

Las especies animales criadas con mayor frecuencia en SPT incluyen a las aves de postura, cerdos, rumiantes, entre otros. Estas pueden actuar como reservorios de patógenos zoonóticos, cuya transmisión al humano puede facilitarse por el contacto frecuente y directo e indirecto de los animales con el grupo familiar, con la persona que realiza los manejos y con su ambiente.

Salmonella (S.) enterica y *Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC) pertenecen a la familia *Enterobacteriácea*, son bacilos Gramnegativos, zoonóticos y ubicuos, que pueden causar enfermedad grave en las poblaciones de riesgo, que corresponden a niños menores de 5 y 10 años, embarazadas, adultos mayores y pacientes con comorbilidades. Existiendo un problema adicional que radica en la sensibilidad a antimicrobianos de las cepas circulantes.

El objetivo de este estudio fue caracterizar epidemiológicamente los aislados de ambos patógenos obtenidos de heces de animales criados en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana de Chile, muestreados entre los años 2019 y 2020.

2. Revisión Bibliográfica

2.1. Sistemas Productivos de Traspatio

Los SPT son pequeños sistemas productivos de características extensivas o semi-intensivas con un número reducido de animales domésticos como aves, cerdos y rumiantes, que se llevan a cabo principalmente en zonas rurales y de bajos ingresos (Conan *et al.*, 2012; Wong *et al.*, 2017; Di Pillo *et al.*, 2019). Son producciones asequibles para personas que viven en áreas remotas y para grupos culturalmente desfavorecidos, porque requieren de pocos insumos para su implementación, y a menudo son sistemas mixtos con actividades agrícolas y pecuarias (Conan *et al.*, 2012; Hamilton-West *et al.*, 2012; SAG, 2016; Wong *et al.*, 2017; Pavez-Muñoz, 2020). La mayoría de los SPT tienen un sistema de confinamiento mixto, es decir, los animales están libres durante el día y se encierran en corrales durante la noche, permitiendo el libre contacto con otros animales y humanos del mismo predio, vecinos, fauna silvestre y cursos de agua (Henning *et al.*, 2011; Alegria-Moran *et al.*, 2017).

Estos SPT contribuyen en la seguridad alimentaria (capacidad de acceder a alimentos) y nutricional de la población; mejorando los ingresos del hogar; utilizando los residuos orgánicos del hogar; sirven de pasatiempo; y corresponde a una actividad económica que empodera a las mujeres (Iqbal, 2009; Wong *et al.*, 2017; Samanta, Joardar y Das, 2018; Di Pillo *et al.*, 2019). Sin embargo, no suelen ser la principal fuente de sustento económico, ni la actividad principal del hogar (Conan *et al.*, 2012; Can y Altuğ, 2014; Alegria-Moran *et al.*, 2017; Di Pillo *et al.*, 2019; Pavez-Muñoz, 2020).

La tenencia de animales por parte de personas sin formación en producción; conocimientos de bioseguridad; ni herramientas tecnológicas apropiadas, aumenta el riesgo de transmisión de patógenos (Beam *et al.*, 2013; Kauber *et al.*, 2017). La falta de control sobre el contacto de los animales con

visitantes o la falta de higiene antes y/o después de manipular a los animales o su alimento, aumentan el riesgo de introducción o diseminación de patógenos en el predio o hacia las personas (Hamilton-West *et al.*, 2012; Alegria-Moran *et al.*, 2017; Pavez-Muñoz, 2020). En más del 45% de los predios los cadáveres son eliminados de forma inadecuada terminando incluso en cursos de agua o comidos por otros animales, sin determinar la causa de muerte (Alegria-Moran *et al.*, 2017; Pavez-Muñoz, 2020). Por lo tanto, los SPT constituyen una interfaz que podría permitir el ingreso, mantención y diseminación de patógenos, producto del contacto prolongado y directo entre diversas especies animales, reservorios de una gran variedad de patógenos (Suzuki *et al.*, 2010; Soler-Tovar y Benavides-Arias, 2017).

2.1.1 Contexto nacional

La zona central de Chile, concentra tanto a los planteles comerciales de aves y cerdos como a los SPT (INE, 2007). Las especies que se encuentran con mayor frecuencia en los SPT son las aves: gallinas y pollos principalmente, seguido de patos y gansos. Esto se asocia a su bajo costo de obtención y mantención; pequeño tamaño; y ciclos productivos cortos, factores que permiten a los productores disponer de sus animales para consumo, venta o intercambio en momentos de necesidad, constituyendo un activo para el hogar (Fleming, Abler y Goetz, 2010; Hamilton-West *et al.*, 2012; Wong *et al.*, 2017).

Las aves criadas en SPT se mantienen en pequeñas parvadas con edades, razas, especies y orígenes diversos; alojadas generalmente con bajas a nulas medidas de bioseguridad y permanentemente durante todo el año (Conan *et al.*, 2012; Wong *et al.*, 2017). Los principales productos obtenidos de las aves de corral son huevos, carne y crías para reemplazo (Hamilton-West *et al.*, 2012).

Por otro lado, los SPT que crían cerdos suelen ser productores con más experiencia y generalmente son crianzas estacionales, a menos que mantengan reproductores durante todo el año (Correia-Gomes *et al.*, 2017). La mayoría de

los productores, aunque informan producir para consumo propio, también informan que venden sus cerdos en mercados cercanos o a familiares y conocidos para alguna festividad (Correia-Gomes *et al.*, 2017).

En el marco de la producción limpia y sostenible, la preferencia de los consumidores urbanos por productos orgánicos, de granja, y su disposición a pagar un precio superior por estos productos, son beneficiosos para los productores de SPT, pero también se convierte en una preocupación creciente para la salud pública (Alders y Pym, 2009; Kauber *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2017).

2.1.2 Uso de antimicrobianos

Pese a la baja o nula asistencia médica o técnica veterinaria (Pavez-Muñoz, 2020), se utilizan medicamentos en animales de traspatio. Siendo los antimicrobianos los de mayor interés para la salud pública (Hamilton-West *et al.*, 2012; Alegria-Moran *et al.*, 2017; Pavez-Muñoz *et al.*, 2021).

La administración apropiada de antimicrobianos implica la supervisión veterinaria para la selección del fármaco, dosis y duración de la terapia acorde a la infección, minimizando el daño al paciente y el desarrollo de resistencia antimicrobiana (Smith & Fratamico, 2018). Durante décadas se han sobreutilizado antimicrobianos de manera terapéutica, preventiva y como promotores de crecimiento en animales productivos, práctica prohibida desde el 2006 en la Unión Europea, lo que ha implicado la selección de cepas patógenas resistentes a antimicrobianos (Barrett *et al.*, 1998; Jones *et al.*, 2008; Engering *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2013; Cantas & Suer, 2014; Smith & Fratamico, 2018; Pavez-Muñoz *et al.*, 2021).

La resistencia a los antibióticos se produce por mutación o adquisición horizontal de genes de resistencia a fármacos, que capacita a microorganismos previamente sensibles para detener los efectos inhibidores (bacteriostáticos) o letales (bactericidas) de los antibióticos mediante tres mecanismos principales: eflujo o cambios en la permeabilidad o transporte del antimicrobiano;

modificación del objetivo del antibiótico por mutación genética o modificación postraduccional del objetivo; e inactivación o modificación del antimicrobiano. Adicionalmente, las bacterias pueden transferirse genes de resistencia a metales pesados y factores de virulencia (Engering *et al.*, 2013; Van Doorn, 2014; Smith & Fratamico, 2018).

El uso de antimicrobianos no prescritos en SPT es una contribución adicional a la resistencia antimicrobiana, ya que los patógenos resistentes son diseminados a través de los alimentos producidos en el SPT, el contacto directo con animales y su entorno (corrales y cursos de agua), pudiendo llegar a poblaciones de alto riesgo (Pavez-Muñoz *et al.*, 2021).

2.2. Salmonella enterica

2.2.1 Características del agente

El género *Salmonella* corresponde a un grupo de bacterias zoonóticas; ubicuas; pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos gramnegativos; flagelados; no esporulados; intracelulares; y anaerobios facultativos (Graziani *et al.*, 2017). El género *Salmonella* consta de dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, con seis subespecies dentro de la última: I) *S. enterica* subsp. *enterica*; II) *S. enterica* subsp. *salamae*; IIIa) *S. enterica* subsp. *arizonae*; IIIb) *S. enterica* subsp. *diarizonae*; IV) *S. enterica* subsp. *houtenae*; y VI) *S. enterica* subsp. *indica*. Adicionalmente, se utiliza el esquema de Kauffman-White para clasificar *Salmonella* en serotipos, basándose en tres determinantes antigénicos principales: somático (O), capsular (K) y flagelar (H) (Brenner *et al.*, 2000; Grimont & Weill, 2007; Eng *et al.*, 2015; ISP, 2016).

Se describen más de 2650 serotipos de *Salmonella* que varían en su epidemiología y distribución geográfica (Grimont *et al.*, 2007; Issenhuth-Jeanjean

et al., 2014). La mayoría de los serotipos de *Salmonella* pertenecen a *S. enterica* subsp. *enterica* (Brenner *et al.*, 2000; Eng *et al.*, 2015; Graziani *et al.*, 2017). Los distintos serotipos de *Salmonella* tienen una amplia gama de hospederos y pueden infectar y/o enfermar tanto a humanos como a animales silvestres, domésticos y sinantrópicos (Crump *et al.*, 2015; Barreto *et al.*, 2016; Graziani *et al.*, 2017).

En salud pública se considera a los niños menores de 5 y 10 años, embarazadas, adultos mayores y pacientes con comorbilidades como grupos de riesgo, porque son más susceptibles a la infección por *Salmonella* que las personas sanas (Crump *et al.*, 2015; Graziani *et al.*, 2017).

2.2.2 Transmisión

En la Unión Europea y Estados Unidos, *S. enterica* es el segundo patógeno más involucrado en casos de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) (EFSA, 2019; CDC, 2020). En Chile, es el principal agente patógeno causante de ETA (Ulloa, 2016; DEIS, 2018), y estos casos se deben principalmente al consumo de huevos crudos en mayonesas caseras y merengues; y en menor medida al consumo de carne de ave cruda (Fica *et al.*, 2012; ISP, 2019).

La transmisión de *S. enterica* es relevante en SPT por al estrecho contacto humano-animal (Beam *et al.*, 2013; Eng *et al.*, 2015). Se estima que el 11% de todas las infecciones por *S. enterica* son atribuibles al contacto directo con animales, con altas tasas de enfermedad y letalidad en niños (Hale *et al.*, 2012).

S. enterica se transmite a través de la ruta fecal-oral, por el contacto con reservorios animales o fómites (Graziani *et al.*, 2017; Martínez *et al.*, 2017). Las deposiciones de un animal infectado pueden contaminar tanto el ambiente como las instalaciones del SPT (Eng *et al.*, 2015; Graziani *et al.*, 2017). Además, el inadecuado manejo de cadáveres en los SPT contribuye a la contaminación del mismo (Alegria-Moran *et al.*, 2017).

La crianza de aves de postura es una actividad frecuente en los SPT (Hamilton-West *et al.*, 2012). Las gallinas son mantenidas por largos periodos de tiempo, durante el cual pueden infectarse y diseminar distintos serotipos de *S. enterica* hasta que son vendidas o mueren por enfermedad o depredación (Conan *et al.*, 2012). Muchas veces las infecciones son asintomáticas y su eliminación intermitente, lo que facilita su persistencia y diseminación al ambiente, permitiéndole llegar a nuevos nichos ecológicos (Fica *et al.*, 2001). Además, entran en contacto con humanos y animales de distintas especies, edades y estados sanitarios; con plantas que pueden ir destinadas a consumo animal o humano; y con afluentes de agua que pueden estar dentro o fuera del SPT (Hamilton-West *et al.*, 2012; Eng *et al.*, 2015; Alegria-Moran *et al.*, 2017). El comercio de animales vivos y productos de los SPT pueden contribuir a la transmisión de este patógeno (Alegria-Moran *et al.*, 2017).

2.2.3 Salmonellas no tíficas

La gravedad de las infecciones en humanos varía según el serotipo involucrado y el estado de salud del hospedero (Crump *et al.*, 2015; Graziani *et al.*, 2017). La salmonelosis tiene un periodo de incubación de 12 a 72 horas (Basler *et al.*, 2016), con signología digestiva autolimitada que puede ser de importancia médica en pacientes del grupo de riesgo (Fica *et al.*, 2001). Cerca del 6% de los pacientes puede progresar a bacteriemia secundaria con complicaciones extra-intestinales (Crump *et al.*, 2015) que incluyen neumonía, colecistitis, celulitis, pancreatitis, infecciones del tracto urinario, apendicitis, endocarditis y meningitis (Eng *et al.*, 2015).

En mamíferos domésticos pueden causar enteritis aguda y/o abortos (Graziani *et al.*, 2017); y en aves de corral las infecciones generalmente son asintomáticas, aunque en aves jóvenes puede causar diarrea, inapetencia, emaciación y muerte (Beam *et al.*, 2013). Dado que las aves pueden ser

portadoras, es importante que los propietarios y manipuladores de aves de corral apliquen constantemente medidas de bioseguridad (Kauber *et al.*, 2017).

2.2.4 Reservorios

Los reservorios encontrados habitualmente en SPT corresponden a pollos, cerdos, pavos, patos, gansos, equinos y rumiantes (Barreto *et al.*, 2016; Alegria-Moran *et al.*, 2017). Adicionalmente, en los SPT se puede encontrar aves silvestres y migratorias, roedores, reptiles, insectos y animales de otros SPT que pueden transmitir el patógeno entre granjas (Eng *et al.*, 2015; Barreto *et al.*, 2016; Basler *et al.*, 2016; Graziani *et al.*, 2017).

2.3. *Escherichia coli* productora de Shigatoxina

2.3.1 Características del agente

Escherichia coli es un bacilo Gramnegativo, miembro de la familia *Enterobacteriaceae*. De carácter zoonótico; ubicuo; móvil; aerobio y anaerobio facultativo; y parte de la microbiota comensal de humanos y animales (Smith & Fratamico, 2017). Las cepas se clasifican, principalmente, según el antígeno O del lipopolisacárido de pared celular y el antígeno H flagelar (Bryan *et al.*, 2015). Hay más de 185 grupos O descritos y 53 grupos H diferentes y el serotipo de *E. coli* se define según la combinación de antígeno O y H (Smith & Fratamico, 2017). Algunos serotipos han adquirido diferentes genes, por transferencia horizontal, que pueden codificar factores de virulencia, toxinas o resistencia antimicrobiana (RAM), generando diversidad de cepas patógenas que causan signología intestinal o extraintestinal (Engering *et al.*, 2013).

El patotipo *E. coli* productora de Shigatoxina (STEC) se caracteriza por la producción de una o más toxinas extracelulares conocidas como Shigatoxina 1 y 2 (Stx1 y Stx2) (Engering *et al.*, 2013). STEC posee más de 400 serotipos, la

mayoría relacionados con enfermedades en animales y humanos (Saeedi *et al.*, 2017). Stx1 es casi idéntico a la toxina de *Shigella dysenteriae*, diferenciándose por un solo aminoácido, y Stx2 es exclusivo de *E. coli* y se encuentra en numerosos serotipos (Bryan *et al.*, 2015). Algunos desencadenantes ambientales como bajo nivel de hierro y uso de antibióticos inducen la liberación de Stx1 y/o Stx2 (Bryan *et al.*, 2015).

2.3.2 Transmisión

STEC es una ETA debido principalmente al consumo de carne de res, en la que se considera un adulterante (Plowright *et al.*, 2017); consumo de leche no pasteurizada; de vegetales y frutas contaminados; de harina cruda; y agua contaminada (Smith & Fratamico, 2018). Pero también se asocia a infecciones humanas por contacto directo con pequeños rumiantes y otros animales que pueden encontrarse en el SPT (Persad y LeJeune, 2014).

Su transmisión es por vía fecal-oral (Smith y Fratamico, 2017). Las heces diarreicas de los animales infectados contribuyen en la propagación de STEC en el SPT, especialmente en meses cálidos (ISP, 2017; Saeedi *et al.*, 2017). Algunos rumiantes pueden actuar como “super diseminadores”, liberando hasta 10^4 UFC/g de STEC en sus heces (Saeedi *et al.*, 2017). La prolongada supervivencia del agente en diferentes ecosistemas y superficies facilita su transmisión a otros animales o humanos susceptibles que están en contacto directo o indirecto con animales infectados (ISP, 2017; Saeedi *et al.*, 2017). Se postula que la exposición repetida a bajas dosis del agente, puede aumentar la inmunidad del hospedero a la infección (Plowright *et al.*, 2017).

2.3.3 Cuadro clínico

STEC también se conoce como *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) cuando produce enfermedad grave y síndrome hemolítico urémico (SHU) (Bryan *et al.*,

2015). Los serotipos de STEC causan un espectro de enfermedades que varía desde diarrea sanguinolenta a colitis hemorrágica (CH) y SHU, que puede ser letal principalmente en niños (Rivas *et al.*, 2014). En países subdesarrollados y en desarrollo, las enfermedades diarreicas infantiles son altamente endémicas y han identificado a STEC como un patógeno de preocupación en este grupo de riesgo (Majowicz *et al.*, 2014).

Por lo general, las infecciones por STEC son autolimitadas y no requieren tratamiento, pero cuando el tratamiento es indispensable, hasta el 50% de los casos graves requieren hospitalización (Saeedi *et al.*, 2017), aunque la mayoría de los pacientes resuelven los signos clínicos entre 2 y 7 días (Bryan *et al.*, 2015). Se estima que entre el 5 – 25% de los pacientes con CH desarrollan SHU, caracterizado por trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática y lesión renal aguda (Saeedi *et al.*, 2017) que requiere diálisis en hasta un 50% de los pacientes durante la fase aguda (Rivas *et al.*, 2014); y entre el 3 – 15% de los pacientes con SHU fallecen (Jones *et al.*, 2008). Entre el 6 – 9 % de los pacientes que tuvieron SHU presentan complicaciones posteriores en el sistema renal, gastrointestinal, cardiovascular o sistema nervioso central, cifra que asciende hasta el 15% en niños menores de 10 años (Bryan *et al.*, 2015).

2.3.4 Reservorios

El ganado vacuno ha sido reconocido como el reservorio más importante de STEC, pero la mayoría de los animales de sangre caliente son capaces de actuar como reservorios sintomáticos o asintomáticos (Bryan *et al.*, 2015). La colonización en ganado adulto y otros animales es asintomática, debido a la ausencia de receptor de la Shigatoxina (Stx) en el endotelio vascular del tracto gastrointestinal, impidiendo que la Stx circule por el torrente sanguíneo y llegue a otros órganos (Saeedi *et al.*, 2017). Pero la presencia de factores de virulencia adicionales puede resultar en enfermedad (Persad *et al.*, 2014). El contacto con el ganado, su ambiente y los productos alimenticios que se originan del ganado

constituyen factores de riesgo importantes para la infección por STEC en los seres humanos (Smith & Fratamico, 2018).

Además de los bovinos, se describen otros reservorios como animales domésticos, silvestres y sinantrópicos que pueden estar presentes en SPT como: ovejas y cabras, cerdos, perros, gatos, aves, entre otros (Scaife *et al.*, 2006; Ferens & Hovde, 2011; Persad & LeJeune, 2014; Bryan *et al.*, 2015; Himsworth *et al.*, 2015).

2.4. Importancia en salud pública

2.4.1 Vigilancia epidemiológica de *S. enterica*

Tanto el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC), mantienen registros actualizados de los casos y brotes de ETA (EFSA, 2019; CDC, 2020). En ambos se posiciona la *S. enterica* como la segunda zoonosis causante de brotes de ETA, después de *Campylobacter* spp. (EFSA, 2019; CDC, 2020). En Europa, la mayoría de los brotes del 2018 fueron causados por *S. Enteritidis*, con un aumento del 36,3% respecto al año 2017; y el serotipo más reportado en aves de corral y productos cárnicos corresponde a *S. Infantis* (EFSA, 2019).

De los casos de salmonelosis en Estados Unidos, el 23% correspondió a niños menores de 5 años (CDC, 2020). Según datos obtenidos de una encuesta aplicada a los casos, el 68% de ellos declaró haber tenido contacto previo con pollitos o patitos, motivando la prohibición de tenencia de estas crías en SPT (CDC, 2020).

El Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) es el laboratorio nacional y de referencia para el diagnóstico de *S. enterica*, y según el Decreto N°7 del 12/03/2019, que Aprueba el Reglamento sobre Notificación de Enfermedades

Transmisibles de Declaración Obligatoria y su Vigilancia (antes D.S. 158/2004), le corresponde confirmar y caracterizar los aislamientos de humanos sospechosos de *S. enterica* provenientes de laboratorios clínicos públicos y privados del país (ISP, 2019). En contraste, la vigilancia de *S. enterica* en producción animal la realiza el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), pero esto sólo se realiza en productos cárnicos de exportación provenientes de planteles adscritos al Programa de Planteles Animales Bajo Certificación Oficial (PABCO), dejando de lado la vigilancia en productos de consumo nacional (Barreto *et al.*, 2016), y especialmente a los productos obtenidos en SPT.

Entre los años 2014 y 2018, 10.104 cepas de *S. enterica* provenientes de aislamientos de origen clínico humano fueron confirmadas por el ISP (ISP, 2019). La obtención de muestras presenta estacionalidad, con un mayor número en los meses de primavera-verano (Olea *et al.*, 2012). El 22% de las cepas aisladas provenían de niños entre 0 a 4 años, seguido por el 13,7% del grupo de 5 a 9 años, sin presentar diferencias por sexo (ISP, 2019). El 43,8% de las cepas procedían de la región Metropolitana (RM) y un 10,1% de la región de Valparaíso (RV). De las cepas provenientes de la RM, el 71,6% provenían de centros de salud privados (ISP, 2019), lo que podría estar indicando una sub-notificación desde el sistema de salud público, tanto de hospitales como centros de salud primaria, que se encuentran distribuidos en los asentamientos humanos de menores recursos a lo largo del país (Fuenzalida *et al.*, 2011; Alegria-Moran *et al.*, 2017). Los serotipos identificados en humanos corresponden en un 60,3% a *S. Enteritidis*; 12,9% a *S. Typhimurium*; 4,1% a *S. Infantis*; 2% a *S. Typhi*; 2% a *S. Paratyphi B*; y 1,8% a *S. Sandiego* (ISP, 2019).

Alegria-Moran *et al.*, (2017), describieron una prevalencia para *S. enterica* en SPT de 8,3% en la RM; 6,6% para la RV; y 2,6% en la región del Libertador General Bernardo O'Higgins, Chile. Los serotipos hallados fueron 52% de *S. Typhimurium*, 16% de *S. Infantis*, 16% *S. Enteritidis*, 8% *S. Hadar*, 4% *S. Tennessee* y 4% *S. Kentucky*. Adicionalmente, se describen como factores que aumentan el riesgo a positividad de *S. enterica* en SPT: la diversidad de especies

de aves (*odds ratio* (OR) = 1,04; intervalo de confianza (IC)-95%: 1,01–1,07), los SPT con actividades productivas mixtas (agrícolas y pecuarias) (OR = 5,35; IC-95 %: 1,2 – 27,6) y los SPT que obtenían animales de reemplazo desde diversas fuentes (OR = 5,19, IC-95%: 1,4 – 20,5) en comparación con los que utilizan su propio reemplazo animal (Alegria-Moran *et al.*, 2017).

2.4.2 Vigilancia epidemiológica de STEC

Se estima que STEC causa casi tres millones de casos agudos, 3.890 casos de SHU, 270 casos de enfermedad renal terminal y 230 muertes al año en todo el mundo (Majowicz *et al.*, 2014). STEC es el tercer patógeno zoonótico más reportado en los países europeos, con 8.161 casos confirmados el 2018 y una tasa de incidencia de 2,28 casos por cada 100.000 habitantes, representando un incremento del 39% en comparación con el 2017 (EFSA, 2019). El escenario es similar en Estados Unidos, donde además se reporta una reducción del 20% en la tasa de incidencia de STEC O157 y un aumento del 35% de STEC no O157 (CDC, 2019). Pese a no ser el primer patógeno zoonótico causante de brotes y muertes humanas, STEC conduce a graves secuelas que lo priorizan en los esfuerzos de vigilancia y control (Majowicz *et al.*, 2014).

En Chile, STEC es objeto de vigilancia obligatoria en laboratorio, de acuerdo con el Decreto N°7 del Ministerio de Salud. El ISP recibe los aislamientos de pacientes humanos con diagnóstico clínico de CH o SHU desde laboratorios públicos y privados (ISP, 2017). En el periodo 2010 - 2016 se aisló un total de 2.196 cepas humanas para confirmación de STEC, de las cuales el 27,6% (607/2196) resultaron positivas. El 71,5% de las cepas confirmadas de STEC provenía de la RM y el 7,2% de la RV (ISP, 2017). El 81,5% de los aislados corresponden a niños de 1 a 9 años y un 7,9% eran menores de 1 año. Los serogrupos identificados con mayor frecuencia fueron O157 y O26, con porcentajes de 58,6% (356/607) y 36,9% (224/607), respectivamente. Los serotipos identificados con mayor frecuencia en las cepas de STEC fueron

O157:H7 (55,7%), O26:H11 (28,5%) y O26:H- (6,4%), siendo el serotipo O157:H7 el más frecuente en la RM y RV (ISP, 2017).

En ganado bovino se reportan prevalencias de STEC O157 entre 0 a 71%, y en algunos rebaños, la tasa de infección llega hasta el 100% (Persad *et al.*, 2014). Un estudio reciente, realizado en la zona central de Chile, denota una tasa de positividad del 17% en bovinos, 1% en cerdos y 0% en perros y gatos (Galarce *et al.*, 2019), pero no se ha reportado la prevalencia de STEC en SPT en el país.

La prevalencia de infección por STEC depende de la interacción de condiciones como: frecuencia y dosis de exposición, susceptibilidad del hospedero y duración de la diseminación al ambiente (Persad *et al.*, 2014). Entre los factores del hospedero, influyen: la edad, el estado de salud e inmunitario, el estrés, el uso de antibióticos y los factores genéticos (Rivas *et al.*, 2014).

Los patógenos zoonóticos presentes en los animales criados bajo condiciones de SPT, como *S. enterica* y STEC, representan un riesgo biológico tanto para los productores y sus familias como para los vecinos y la comunidad que tenga contacto con estas poblaciones animales o, así también, sus subproductos (Cantas *et al.*, 2014). Estas infecciones se pueden adquirir por contacto directo e indirecto con animales (Wibisono *et al.*, 2020).

En su mayoría, los propietarios de SPT son parte de la población de riesgo. En Chile, son manejados principalmente por mujeres, y cerca del 60% de los propietarios tienen más de 55 años (Di Pillo *et al.*, 2019; Correia-Gomes y Sparks, 2020). Además, debido a la distribución mayoritaria de los SPT en zonas rurales, carentes de servicios de salud y recursos para la detección de casos de salmonelosis o infecciones por STEC, aumenta la probabilidad de que los casos estén siendo sub-notificados en el país y de que los propietarios sufran comorbilidades que generan inmunosupresión como cáncer, diabetes, alcoholismo, hipotiroidismo, SIDA, entre otras (Cantas *et al.*, 2014).

En adición a lo anterior, el rol de animales domésticos como reservorios de *S. enterica* y STEC se encuentra ampliamente descrito, así como que el contacto con animales infectados y/o sus subproductos, son las principales rutas

de transmisión de ambos patógenos. Considerando que las condiciones de manejo de animales mantenidos en SPT revelan importantes fallas en las medidas de bioseguridad; potenciales interacciones con otros reservorios domésticos, silvestres y sinantrópicos presentes en el mismo SPT o vecinos; junto con las condiciones sanitarias particulares altamente variables, este estudio tiene como objetivo caracterizar los aislados de *S. enterica* y STEC obtenidos de SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana de Chile.

3. Objetivos:

3.1 Objetivo general:

Determinar características epidemiológicas y microbiológicas de aislados de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC) obtenidos de sistemas productivos de traspatio (SPT) de las regiones de Valparaíso y Metropolitana, muestreados entre los años 2019 y 2020.

3.2 Objetivos específicos:

- 1-. Determinar la tasa de positividad de *Salmonella enterica* y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana, muestreados entre los años 2019 y 2020.
- 2-. Determinar los factores de riesgo y la distribución espacial de *Salmonella enterica* y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana, muestreados entre los años 2019 y 2020.
- 3-. Determinar el perfil de resistencia a antimicrobianos en aislados de *Salmonella enterica* y STEC provenientes de SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana, muestreados entre los años 2019 y 2020.

4. Hipótesis de Trabajo

Los sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso presentan factores de riesgo para la presencia de cepas de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de Shigatoxina (STEC) con fenotipos de resistencia antimicrobiana.

5. Materiales y Métodos

Esta tesis de Magíster se encuentra enmarcada dentro del proyecto FONDECYT 11180476, dirigido al análisis epidemiológico y microbiológico de muestras de animales mantenidos en SPT ubicados en las regiones Metropolitana, de Valparaíso y del Libertador General Bernardo O'Higgins. Esta tesis de magíster se encuentra circunscrita a la situación específica de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, estratificando la toma de muestras en sus 12 provincias: Chacabuco, Cordillera, Maipo, Melipilla, Santiago y Talagante para la región Metropolitana. Petorca, Valparaíso, Quillota, San Felipe, Los Andes y San Antonio para la región de Valparaíso.

Los objetivos que comprende esta tesis corresponden al análisis de datos obtenidos previamente por el proyecto, incluyendo: georreferenciación de los SPT muestreados; respuestas a los cuestionarios aplicados a los propietarios de cada SPT; y los datos de cepas aisladas y confirmadas de *S. enterica* y STEC, con un total de 5 y 37 aislados, respectivamente.

La metodología que se describe a continuación corresponde al cálculo de tamaño muestral, toma de muestra y detección de patógenos, comprendida en el proyecto FONDECYT 11180476, y cuenta con sus respectivos certificados de bioseguridad y bioética emitidos por FAVET y por CICUA-UChile, respectivamente (Anexos 1 y 2).

5.1. Cálculo de tamaño muestral

En este estudio, se realizó un muestreo aleatorio estratificado con asignación proporcional, en las provincias anteriormente mencionadas. El tamaño muestral fue calculado utilizando la siguiente ecuación (Ecuación 1) (Dohoo *et al.*, 2009):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 pq}{L^2}$$

Ecuación 1. Tamaño de muestra para la determinación de una proporción.

Donde n representa el tamaño muestral; Z_{α} es el valor requerido para la confianza = $1 - \alpha$, donde α corresponde al nivel de confianza; Z_{α} es el percentil de una distribución normal estándar ($1 - \alpha / 2$); p es la prevalencia esperada del patógeno; q es $(1 - p)$; y L es la precisión de la estimación o margen de error. Si se supone una falta de conocimiento sobre la prevalencia de STEC en SPT en la zona central de Chile, el tamaño de muestra se calcula basándose en una prevalencia de un 50%, asegurando el tamaño mínimo de muestra más alto posible, utilizando la aproximación de estimación de una proporción (Dohoo *et al.*, 2009). Para ello se fija un nivel de confianza del 95% y una precisión del 5%.

Para la selección de los SPT, se consideraron aquellos que como base realizaban una crianza de aves de corral, pudiendo sumarse la crianza de cerdos, bovinos, ovinos, caprinos, patos, gansos, conejos, u otros. En base a lo anterior, y a la información del último censo agropecuario realizado por el INE (2007), se determinó un tamaño muestral de 84 SPT para la RM y de 73 SPT para la RV, consignando un total de 157 SPT. El tamaño muestral fue calculado teniendo en consideración la zona de estudio completa asociada al proyecto FONDECYT 11180476.

La cantidad de muestras a tomar en cada SPT fue calculada siguiendo la Ecuación 2 (Dohoo *et al.*, 2009):

$$n = \left(1 - \alpha^{1/D}\right) (N - (D - 1)/2)$$

Ecuación 2. Tamaño de muestra intra-SPT.

Donde: n es el tamaño de la muestra; N es el tamaño poblacional; D es el número mínimo estimado de animales enfermos en el grupo; y $\alpha = 1 -$ el nivel de

confianza. Considerando la detección de al menos un 30% de animales positivos y considerando N como el número que define un SPT. Dando un tamaño de muestra mínimo de 8 animales por cada SPT, con un foco en el muestreo de aves. En el caso de que el tamaño poblacional de animales dentro del traspatio fuese menor a la estimación, el tamaño de muestra se complementó con otros animales presentes en el sistema o con muestras ambientales. En caso de superar el tamaño mínimo de muestra y ser factible el muestreo de más animales del SPT, estos se adicionaron a la muestra.

5.2. Toma de muestras

Para la detección de los agentes zoonóticos ya mencionados, se recolectaron muestras de los animales presentes en los SPT incluidos en el estudio. Las muestras fueron tomadas directamente desde la cloaca o recto de los animales, utilizando hisopos estériles con medio de transporte Cary-Blair, rotulados con el código asignado a cada SPT, más la identificación de la especie animal. En caso de encontrar heces frescas y/o en caso de no poder completar el número mínimo de muestras por SPT, se colectaron muestras ambientales desde el piso de los corrales o donde se encontraban los animales. Estas se rotularon con el código de identificación del SPT, la especie procedente y un código que indique que se trata de una muestra ambiental.

Posterior a la toma de muestra, estas fueron transportadas a 4°C e ingresadas al Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria (LaCIV) de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, laboratorio en donde se desarrolló el trabajo, siendo refrigeradas hasta el momento de su procesamiento.

5.3. Detección de *S. enterica* y *E. coli* productora de Shigatoxina

5.3.1 *Salmonella enterica*

El protocolo utilizado para el cultivo bacteriológico constó de tres etapas: pre-enriquecimiento, enriquecimiento y aislamiento selectivo, detallado en Anexo 3, validado internacionalmente (Marier *et al.*, 2014) y utilizado por el SAG y el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (LEI-FAVET).

La confirmación del diagnóstico de *S. enterica* se realizó mediante PCR convencional, dirigido a la detección del gen *invA*, gen conservado en *S. enterica*, según protocolos descritos (Malorny *et al.*, 2003) (Anexo 4).

En la región Metropolitana se encontraron cinco muestras positivas a *S. enterica*, correspondiente a cuatro sistemas productivos de traspatio. Mientras que, en la región de Valparaíso no se encontraron muestras positivas.

5.3.2 *Escherichia coli* productora de Shigatoxina

El protocolo para el cultivo de esta bacteria considera inicialmente una fase compartida con el procesamiento de muestras para la búsqueda de *Salmonella enterica* siguiendo las indicaciones previamente descritas para su enriquecimiento, aislamiento y posterior confirmación mediante PCR (Cebula *et al.*, 1995) (Anexo 5).

Desde la región Metropolitana se hallaron 20 muestras positivas, correspondiente a diez sistemas productivos de traspatio, mientras que en la región de Valparaíso se encontraron 17 muestras positivas, provenientes de 10 sistemas productivos de traspatio.

5.4. Objetivo específico 1

5.4.1 Determinación de la tasa de positividad de *S. enterica* y/o STEC

Para la determinar la tasa de positividad, se consideró como unidad epidemiológica al SPT. Se determinó la tasa de positividad para *S. enterica*, STEC y Enterobacterias (*S. enterica* y STEC) en las regiones de Valparaíso y Metropolitana, utilizando la Ecuación 3 (Dohoo *et al.*, 2009; Thrusfield, 2018):

$$P = \frac{\text{Casos positivos}}{\text{Población en riesgo}}$$

Ecuación 3. Para calcular la prevalencia de una enfermedad.

Donde los casos positivos corresponden al total de SPT positivos a los agentes, y la población en riesgo al total de SPT muestreados en una determinada unidad geopolítica.

5.5. Objetivo específico 2

5.5.1 Determinación de distribución espacial

Se procesaron los datos para descripción de los patrones espaciales de SPT muestreados y casos positivos a *S. enterica* y/o STEC, utilizando programas informáticos de sistemas de información geográfica (SIG) como QGIS, GeoDa y SaTScan, herramientas tecnológicas desarrolladas para análisis, gestión y monitoreo de datos (Buzai *et al.*, 2013).

Se diseñaron mapas coropléticos, utilizando el *software* QGIS, que relacionan las provincias muestreadas con la tasa de positividad de cada una de ellas para cada patógeno y el conjunto de ellos. Se utilizó el formato vectorial en archivo digital de formas (*shapefiles*), correspondiente a las regiones y provincias de la zona central de Chile evaluadas en esta tesis, junto con información de la

tasa de positividad obtenida en cada una de las provincias, acorde al periodo de estudio. Las unidades espaciales se representaron con una determinada escala de degradación de color, según el recuento de la información mapeada.

El presente estudio considera como unidad espacial la división geográfica de las provincias, asumidas como un área enmarcada de cobertura homogénea, estable y distinguible frente a las unidades que la rodean (Thrusfield, 2003). La correlación espacial de la variable de interés, incluida en las provincias como característica holística por polígono, se evaluó mediante autocorrelación espacial (AE), utilizando el *software* GeoDa. La AE es una propiedad de los datos espaciales representados por un índice que cuantifica la dependencia global al mediar la correlación entre observaciones de la misma variable en distintas perspectivas en el espacio. Dicho índice se obtuvo mediante estadística espacial, con los indicadores locales de asociación espacial (LISA) (Pfeiffer *et al.*, 2008). Los indicadores de AE permiten estimar cuánto contribuye cada caso positivo de *S. enterica* o STEC notificado según unidad geopolítica, a la formación del valor general, permitiendo observar el grado de asociación espacial de los casos detectados o la heterogeneidad resultante del aporte de cada unidad espacial.

Para el análisis de casos positivos, se trabajó con el índice I de Morán. Este indicador local de asociación espacial permite verificar el grado de similitud o diferencia entre el valor observado de casos positivos en un área, respecto al valor en las zonas vecinas. El índice I de Moran está asociado a una prueba de hipótesis, presentada bajo el supuesto de normalidad, considerando que la hipótesis nula (H0) establece que no hay AE (Pfeiffer *et al.*, 2008).

La estructura general del estadístico índice I de Morán, para medir AE está dada por la Ecuación 4:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n W_{ij} C_{ij}$$

Ecuación 4. Para el cálculo del índice I de Morán.

Donde n es el total de lugares del mapa, W_{ij} son los elementos de una matriz (de conexiones espaciales), C_{ij} es una medida de la proximidad de los valores i y j en alguna dimensión definida.

Este análisis estadístico permite tres posibles resultados:

- a) Autocorrelación espacial positiva: agrupamiento de las unidades espaciales (las unidades vecinas presentan valores próximos).
- b) Autocorrelación espacial negativa: dispersión de las unidades espaciales (las unidades vecinas presentan valores dispares).
- c) Sin autocorrelación: no ocurre ninguna de las situaciones anteriores (los valores de las unidades vecinas se despliegan aleatoriamente) (Martori *et al.*, 2008).

Para la determinación de la presencia de *clusters* espaciales se utilizó el software SaTScan, que utiliza estadística de escaneo (*Scan Statistics*) y estadística de Kulldorff (Kulldorff, 1997) para detectar puntos calientes (*hotspots*), o si la distribución de los puntos es producto de la aleatoriedad (Naus, 1965). La ventana generada que contiene los *clusters* tiene una forma circular predefinida y de tamaño variable por ser escaneo de la región estudiada, lo cual resulta útil cuando se desconoce previamente el área que ocupará el *cluster* geográfico (Duczmal *et al.*, 2009).

El término *cluster* comprende un número de casos anormalmente elevados, en un área determinada. Sin embargo, el interés puede ser determinar áreas donde el número de casos es menor. Con las técnicas descritas es posible realizar la detección de la locación de *clusters* y las inferencias implicadas, es decir, cuando se rechaza la hipótesis nula, se puede localizar el área específica del mapa que genera ese rechazo, sin restringirse a grupos ajustados a fronteras administrativas o políticas (Kulldorff *et al.*, 1995).

Por la dicotomía de los datos de positividad a *S. enterica* o STEC, estos se ajustan bajo el modelo de distribución de probabilidades de Bernoulli. Este

análisis deja que N denote un proceso de puntos espaciales donde $N(A)$ es el número aleatorio de puntos en el conjunto $A \subset G$; a medida que la ventana se desplaza sobre su área de estudio, define una compilación Z de zonas $Z \subset G$; de manera intercambiable, se utiliza Z para denotar tanto un subconjunto de G , como un conjunto de parámetros que definen la zona. Este modelo de Bernoulli, considera solo las medidas μ , tales que $\mu(A)$ es un número entero para todos los subconjuntos $A \subset G$. La unidad de medida corresponde a un punto geolocalizado que puede ser identificado como “caso” (SPT positivo) o “control” (SPT negativo) al diagnóstico de *S. enterica* o STEC. El modelo contiene justo una zona $Z \subset G$, dentro de esta zona cada individuo posee probabilidad “p” de ser un punto, y los individuos fuera de la zona una probabilidad “q”. La probabilidad de cualquier individuo es independiente de los otros (Kulldorff, 1997). Mediante ajuste por la prueba del cociente de probabilidad, se identificó el espacio con mayor probabilidad de ser un *cluster*, estimando la zona que maximiza la función de probabilidad, que es el estimador de máxima verosimilitud del parámetro.

5.5.1 Determinación de factores de riesgo para la positividad de *Salmonella enterica* y/o STEC

Durante las actividades de terreno, se aplicó un cuestionario (Anexo 6), validado previamente (Alegria-Moran *et al.*, 2017), con el fin de caracterizar el manejo de animales, las medidas de bioseguridad aplicadas y variables sociodemográficas que afectan a cada SPT. La información fue registrada física y digitalmente utilizando el *software Microsoft Excel*. Además, se georeferenciaron los SPT utilizando un sistema de posicionamiento global (Garmin GPS Map 62s). La información recolectada fue exportada, ordenada y almacenada utilizando *Microsoft Excel*, obteniendo datos sobre la presencia o ausencia de condiciones específicas de bioseguridad, medidas de manejo e intercambio de animales, las cuales pueden influir en la circulación de *S. enterica*

y STEC. Cumpliendo con los protocolos de bioética y responsabilidad en la investigación científica y bioseguridad. Todos los encargados de los SPT que accedieron a participar lo hicieron previa firma de consentimiento informado (Anexo 7).

En base a la información recolectada con la encuesta y los resultados de la detección de patógenos, se construyeron tres modelos de regresión logística multivariable (Dohoo *et al.*, 2009), para *S. enterica*, STEC y enterobacterias (*S. enterica* y STEC). Se incluye un modelo con ambos patógenos debido a que estos comparten características epidemiológicas como su transmisión oro-fecal, son dos de las tres principales agentes asociados a ETA a nivel mundial, pueden generar enfermedad grave en los grupos de riesgo y ambos patógenos se describen en reservorios que probablemente estén presentes en los SPT de la zona central de Chile como aves, cerdos y rumiantes.

En este estudio, la variable respuesta (Y) es de características dicotómicas, es decir, “Y” sólo puede tomar dos valores: 0 o 1. Donde Y = 0 representa la ausencia de *S. enterica* y/o STEC en el SPT, e Y = 1 corresponde a la presencia de estas bacterias en el SPT.

Para la selección de variables a ser analizadas como potenciales factores de riesgo se aplicaron criterios de preselección sobre la base de datos (Anexo 6), relacionados con la tasa de respuesta, similitud entre variables y descarte de aquellas no relacionadas epidemiológicamente con la presencia de patógenos. Las variables preseleccionadas se sometieron a regresión logística simple para cada uno de los modelos, seleccionando aquellas que presentaron un *p-value* menor a 0,15 (criterio de *p-value* liberal). Todas las variables que cumplieron con este criterio fueron analizadas mediante correlación de Spearman (variables cuantitativas) y test exacto de Fisher (variables cualitativas) para chequear colinealidad y asociación entre variables, permitiendo la corrección por potenciales factores confundidores.

La construcción de los modelos multivariable se realizó mediante un procedimiento de *stepwise backward elimination*, removiendo del modelo aquellas variables que no presenten significancia ($p > 0,05$) en la comparación de modelos con análisis de varianza. La convergencia de los modelos fue fijada a un valor de épsilon (ϵ) = e^{-16} , con el fin de garantizar un nivel de exigencia adecuado para los modelos realizados. La bondad de ajuste del modelo a los datos fue evaluada mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow (Hosmer *et al.*, 1997; Hosmer *et al.*, 2013).

Todos los análisis fueron realizados en el *software* estadístico R (R_Core_Team, 2013) y RStudio en su última versión disponible, permitiendo la identificación y cuantificación de aquellas variables que sean factores que modifiquen el riesgo de positividad a *S. enterica* o STEC en los SPT de la zona geográfica estudiada.

5.6. Objetivo específico 3

Se determinó el perfil de resistencia fenotípica de todos los aislados que fue posible recuperar de STEC (14 aislados) y *S. enterica* (5 aislados) utilizando el método de concentración mínima inhibitoria (MIC) a través del sistema automatizado VITEK2 (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia), calibrado con cepas de referencia, y la tarjeta AST-GN98, acorde con las instrucciones del fabricante. El panel antimicrobiano evaluado constó de medicamentos comúnmente utilizados en medicina veterinaria y humana, incluyendo: aminoglucósidos (amikacina y gentamicina); β -lactámicos (amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina, cefalexina, cefovecina, cefpodoxima, ceftazidima, ceftiofur e imipenem); inhibidores de la síntesis de folatos (trimetoprim-sulfametoxazol); nitrofuranos (nitrofurantoína); fenicoles (cloranfenicol); quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina y marbofloxacina); tetraciclinas (doxiciclina); y también determina la presencia o ausencia del fenotipo de β -lactamasa de

espectro extendido (BLEE) del patógeno en estudio, mediante una combinación de cefepima, cefotaxima y ceftazidima sola y en combinación con ácido clavulánico.

Los valores de corte clínicos se aplicaron acorde con el *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015) y el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2021), interpretando los resultados de forma conservadora, considerando las cepas con susceptibilidad intermedia como resistentes. Las cepas resistentes a tres o más clases de antimicrobianos, se consideraron resistentes a múltiples fármacos (MDR) (Magiorakos *et al.*, 2012).

Se determinó la frecuencia de los perfiles de resistencia obtenidos y realizó un análisis estadístico de comparación de positividad entre las provincias positivas, considerando como variable de interés la tasa de positividad de cepas resistentes de ambos patógenos a uno o más grupos de antimicrobianos (Rothman, 2012).

6. Resultados

6.1. Determinar la tasa de positividad de *S. enterica* y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana

Se muestrearon un total de 139 (89%; 139/157) SPT en total, considerando ambas regiones, faltando parte de ellos (10) en la provincia de Petorca y la totalidad de Quillota (11). Esto último debido a las restricciones sanitarias asociados a la pandemia (Tabla 1).

Tabla 1. Sistemas productivos de traspatio muestreados por provincia.

Región	Provincia	N° de SPT ¹ con crianza de aves	N° de SPT con crianza de cerdos	Tamaño de muestra	N° SPT muestreados
Valparaíso	Petorca	956	105	18	8
	Valparaíso	500	35	6	6
	Quillota	781	64	11	0
	San Felipe	770	136	23	25
	Los Andes	270	15	3	3
	San Antonio	384	72	12	12
Subtotal		3661	427	73	54
Metropolitana	Melipilla	1910	202	34	34
	Chacabuco	426	78	13	13
	Santiago	244	61	10	10
	Cordillera	237	29	5	5
	Talagante	387	36	6	7
	Maipo	632	92	16	16
Subtotal		3836	498	84	85
Total				157	139

¹ Sistema productivo de traspatio.

6.1.1. Tasa de positividad de *S. enterica* en SPT

En este estudio se encontró positividad a *S. enterica* únicamente en la región Metropolitana, presentando una tasa de positividad de 4.71% (4/85) a nivel regional. Los casos se concentraron en las provincias de Melipilla (5.88%; 2/34), Cordillera (20%; 1/5) y Maipo (6.25%; 1/16) (Figura 1). La zona geográfica de estudio presentó una tasa de positividad de 2.88% (4/139) (Tabla 2).

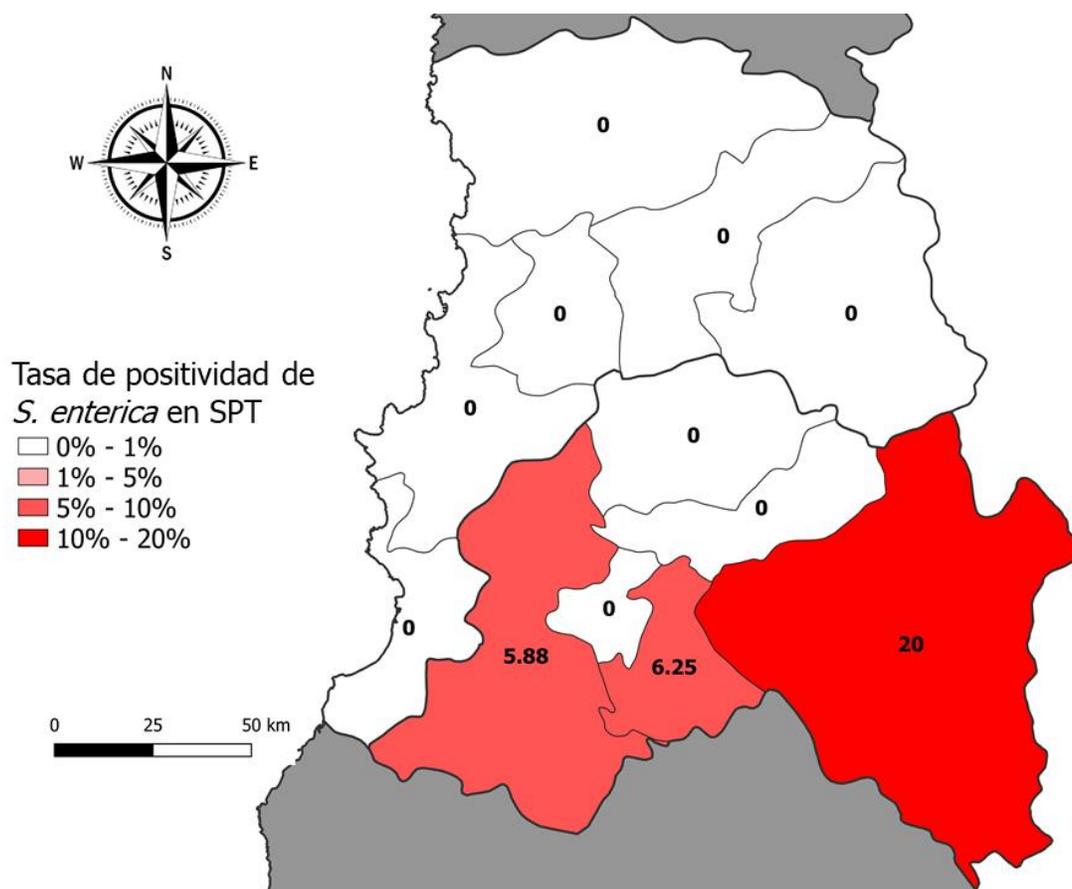


Figura 1. Distribución espacial de la tasa de positividad a *S. enterica* por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspatio de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile.

6.1.2. Tasa de positividad de STEC en SPT

En este estudio, se encontró positividad a STEC en animales mantenidos en SPT de ambas regiones. La Región Metropolitana presentó una tasa de positividad del 11.76% (10/85), con positividad en 4 de las 6 provincias contenidas en dicha región, que corresponden a: Melipilla (11.77%; 4/34), Cordillera (60%; 3/5), Maipo (6.25%; 1/16), y Chacabuco (15.38%; 2/13). Por otro lado, la región de Valparaíso presentó una tasa de positividad del 18.52% (10/54), encontrándose SPT positivos en 3 de las 6 provincias estudiadas: San Felipe (24%; 6/25), San Antonio (25%; 3/12) y Petorca (12.5%; 1/8) (Figura 2). La tasa de positividad determinada para la zona geográfica completa corresponde al 14.39% (20/139) (Tabla 2).

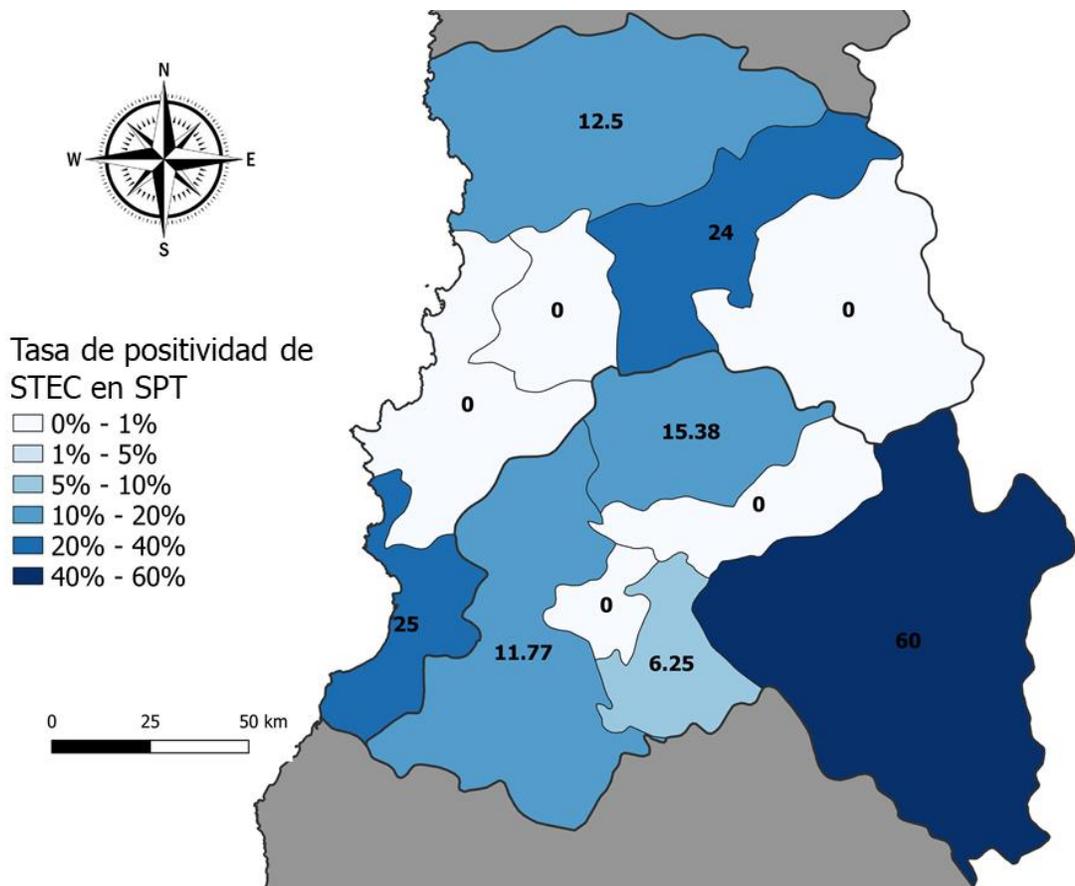


Figura 2. Distribución espacial de la tasa de positividad a STEC por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspato de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile. La provincia de Quillota presenta una tasa de positividad de 0% por la imposibilidad de muestreo asociado a las restricciones sanitarias.

6.1.3. Tasa de positividad de Enterobacterias en SPT

Al evaluar, la positividad a Enterobacterias correspondiente a la positividad a *S. enterica* y/o STEC, para cada provincia, la tasa de positividad para la zona geográfica estudiada fue de un 17.27% (24/139). Las provincias de la región de Valparaíso comparten los mismos valores para STEC, con una tasa de positividad del 24% para San Felipe (6/25), 25% San Antonio (3/12), 12.5% para Petorca (1/8) y 18.52% para la región completa (10/54). Por otro lado, en la región Metropolitana se encontró una tasa de positividad del 16.47% (14/85), con valores por provincia de: 17.65% en Melipilla (6/34), 80% en Cordillera (4/5), 12.5% en Maipo (2/16) y 15.38% en Chacabuco (2/13) (Figura 3; Tabla 2).

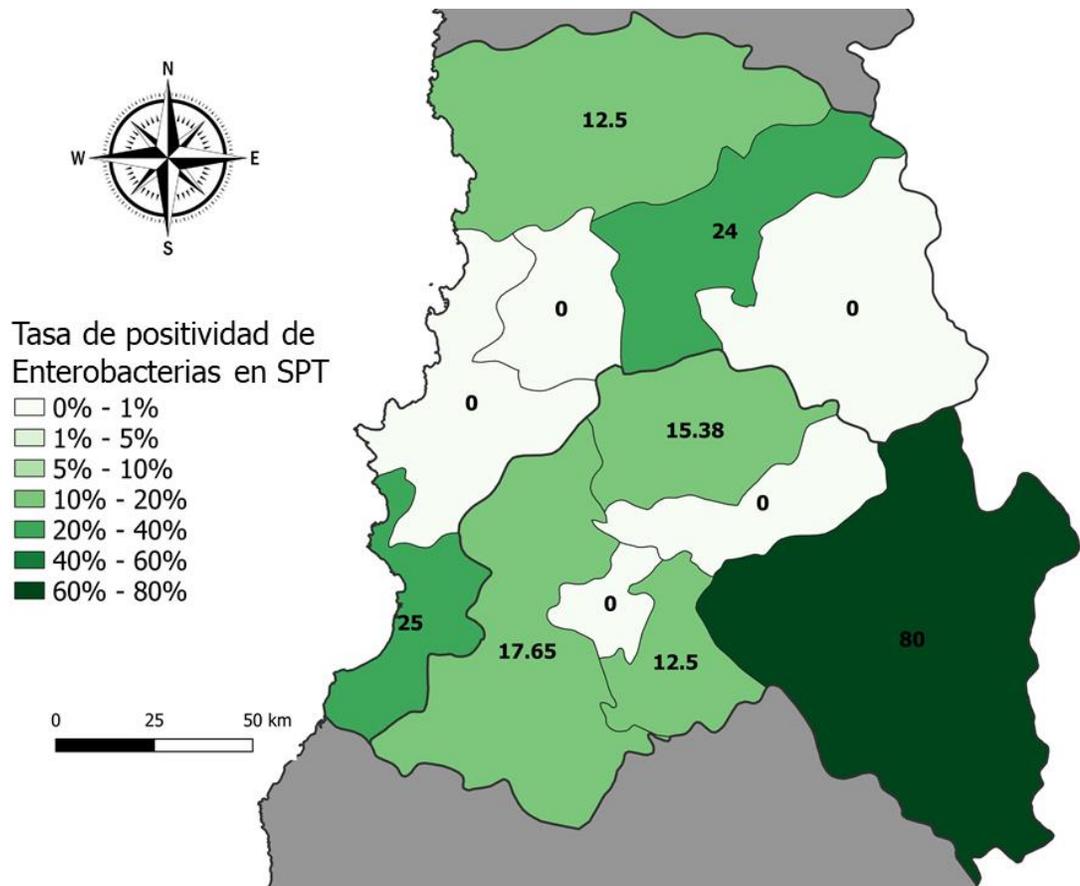


Figura 3. Distribución espacial de la tasa de positividad a Enterobacterias por provincia, en animales mantenidos en sistemas productivos de traspato de las regiones Metropolitana y de Valparaíso, Chile.

En relación con la tasa de positividad de *S. enterica*, STEC y Enterobacterias en SPT, tanto para las provincias muestreadas como para las regiones contempladas en este proyecto, resalta la situación de la provincia de Cordillera en la región Metropolitana, con un 20% de positividad para *S. enterica*, un 60% para STEC y un 80% para Enterobacterias (Tabla 2). En el caso de la región de Valparaíso destacan las provincias de San Felipe y San Antonio en lo referido a la positividad a STEC y Enterobacterias, es importante destacar que en esta región no se detectó positividad a *S. enterica* (Tabla 2).

Tabla 2. Tasa de positividad de SPT a *S. enterica* y/o STEC en provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso muestreados entre los años 2019 y 2020.

Región	Provincia	N° de muestras	SPT ¹ positivos <i>S. enterica</i>	Tasa de Positividad <i>S. enterica</i> (%)	SPT positivos STEC ²	Tasa de Positividad STEC (%)	SPT positivos Enterob. ³	Tasa de Positividad Enterob. (%)
Metropolitana	Melipilla	34	2	5,88%	4	11,77%	6	17,65%
	Talagante	7	0	0%	0	0%	0	0%
	Cordillera	5	1	20%	3	60%	4	80%
	Maipo	16	1	6,25%	1	6,25%	2	12,50%
	Chacabuco	13	0	0%	2	15,38%	2	15,38%
	Santiago	10	0	0%	0	0%	0	0%
	Subtotal	85	4	4,71%	10	11,76%	14	16,47%
Valparaíso	Los Andes	3	0	0%	0	0%	0	0%
	Valparaíso	6	0	0%	0	0%	0	0%
	San Felipe	25	0	0%	6	24%	6	24%
	San Antonio	12	0	0%	3	25%	3	25%
	Petorca	8	0	0%	1	12,50%	1	12,50%
	Quillota	0	0	0%	0	0%	0	0%
	Subtotal	54	0	0%	10	18,52%	10	18,52%
Total	139	4	2,88%	20	14,39%	24	17,27%	

¹Sistemas productivos de traspatio; ²*Escherichia coli* productora de Shigatoxina; ³Enterobacterias.

Las especies animales involucradas en el diagnóstico positivo a *S. enterica* fueron gallinas en las tres provincias positivas de la región Metropolitana, y un ganso en la provincia de Melipilla. Mientras que, entre los positivos a STEC, se encuentran cerdos, patos, gallinas, gansos, vacas, ovejas y cabras en cuatro provincias positivas de la región Metropolitana y tres provincias de la región de Valparaíso (Tabla 3).

Tabla 3. Especies animales involucradas en la positividad de *S. enterica* y STEC en SPT según región y provincia.

Patógeno	Región	Provincia	ID SPT	Especie animal
<i>S. enterica</i>	Metropolitana	Melipilla	ME023	Gallina/Ganso
			ME033	Gallina
		Cordillera	CORD002	Gallina
		Maipo	MAI013	Gallina

STEC	Metropolitana	Melipilla	ME001	Cerdo/Vaca
			ME010	Pato
			ME011	Gallina/Oveja
			ME024	Oveja
	Cordillera	CORD001	Vaca	
		CORD003	Oveja	
		CORD004	Cabra/Oveja	
	Maipo	MAI009	Gallina	
	Chacabuco	CHAC003	Oveja/Vaca	
		CHAC010	Cabra/Oveja	
	de Valparaíso	San Felipe	SF011	Gallina/Ganso
			SF015	Oveja
			SF017	Cabra/Oveja
			SF019	Cabra
		SF021	Gallina	
		SF022	Gallina	
		San Antonio	SA001	Cabra/Vaca
SA007			Gallo	
SA010			Gallina	
Petorca		PET003	Gallina/Toro	

6.2. Determinar los factores de riesgo y la distribución espacial de *S. enterica* y STEC en SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana

6.2.1. Análisis de distribución espacial

No se encontraron *clusters* espaciales estadísticamente significativos (p -value < 0.05), sólo un caso al borde de la significancia (p -value: 0.058), ubicado en la provincia de Cordillera. Las características de este y todos los demás *clusters* se pueden observar en la Tabla 4.

Tabla 4. *Clusters* espaciales de alto y bajo número de casos de sistemas productivos de traspatio positivos a *S. enterica*, STEC o enterobacterias.

Modelo	Cluster	Coord./rad. ¹	Pob. ²	Casos	Esp. ³	Obs. ⁴	RR. ⁵	% casos	p-value
<i>S. enterica</i>	1	(33.803070 S, 70.701450 W) / 17.32 km	19	2	0.55	3.66	6.32	10.5%	0.77
STEC	1	(33.724560 S, 70.553710 W) / 0.85 km	2	2	0.29	6.95	7.61	100%	0.53
	2	(32.845760 S, 70.997130 W) / 0.043 km	2	2	0.29	6.95	7.61	100%	0.88
	3	(33.807110 S, 70.878300 W) / 16.34 km	22	0	3.17	0	0	0%	0.89
	4	(32.627540 S, 70.697990 W) / 32.80 km	15	0	2.16	0	0	0%	0.98
	5	(33.321050 S, 71.408410 W) / 32.26 km	15	0	2.16	0	0	0%	0.98
Enterob. ⁶	1	(33.724390 S, 70.544530 W) / 2.21 km	4	4	0.69	5.79	6.75	100%	0.058
	2	(32.845760 S, 70.997130 W) / 0.043 km	2	2	0.35	5.79	6.23	100%	0.97
	3	(32.627540 S, 70.697990 W) / 32.80 km	15	0	2.59	0	0	0%	0.983
	4	(33.796400 S, 70.777450 W) / 7.48 km	12	0	2.07	0	0	0%	0.993

¹Coordenadas/radio; ²Población; ³Esperados; ⁴Observados; ⁵Riesgo relativo; ⁶Enterobacterias.

La ubicación geográfica de los *clusters* identificados, aunque no estadísticamente significativos, se puede observar en la Figura 4. Estos se encuentran predominantemente ubicados sobre las provincias de Maipo y

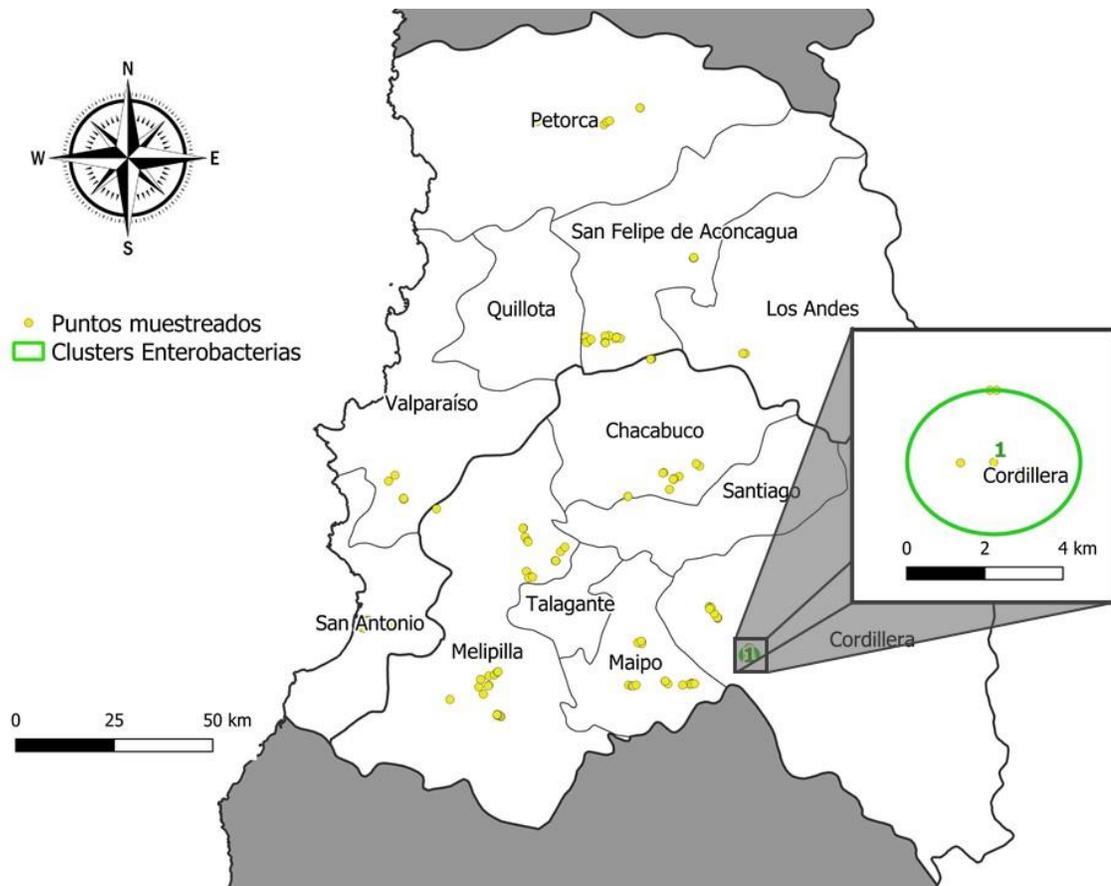


Figura 5. Cluster de alto número de casos para Enterobacterias en la provincia de Cordillera, región Metropolitana, Chile.

Por otro lado, el análisis de indicadores locales de agrupamiento espacial (LISA) genera un mapa de *clusters* que indica la relación de la tasa de positividad entre provincias vecinas en primer grado. Se identificó a la provincia de Santiago como una provincia que presenta autocorrelación espacial negativa, con baja tasa de positividad para *S. enterica* rodeada por provincias con alta tasa de positividad (A). Para STEC no se identificaron *clusters* (B). Y en el caso de Enterobacterias (C), se identificó la provincia de Chacabuco con autocorrelación espacial negativa, una alta tasa de positividad rodeada por provincias con baja tasa de positividad (Figura 6). Sin embargo, únicamente el *cluster* de *S. enterica*

presentó un valor que bordea la significancia estadística (*pseudo p-value*: 0.067) (Tabla 5).

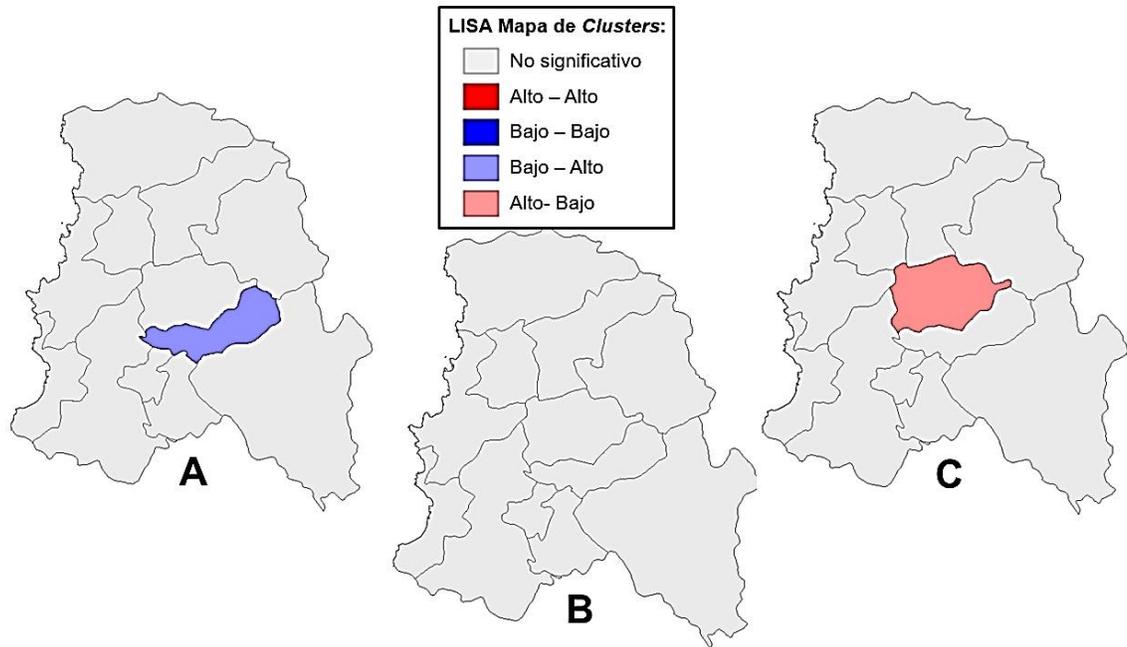


Figura 6. *Clusters* de indicadores locales de autocorrelación espacial (LISA) de las provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso, positivas a *S. enterica* (A), STEC (B) y Enterobacterias (C).

Tabla 5. Análisis de indicadores locales de autocorrelación espacial de las provincias de la región Metropolitana y de Valparaíso, positivas a *S. enterica*, STEC y Enterobacterias.

Modelo	Cluster	LISA Cluster	I de Morán	E[<i>I</i>]	mean	sd	z-value	p-value	pseudo p-value
<i>S. enterica</i>	Santiago	Low-High	0,069	-0,0909	-0,0859	0,0955	1,8109	0,05	0,067
STEC	-	-	-0,217	-0,0909	-0,0938	0,1277	-0,9667	-	0,175
Enterobacterias	Chacabuco	High-Low	-0,163	-0,0909	-0,092	0,1064	-0,6635	0,05	0,274

6.2.2. Factores de riesgo

A partir de la encuesta aplicada en cada SPT, se generó una base de datos con la identificación de cada SPT, las respuestas de su cuestionario y los datos de positividad o negatividad para cada patógeno. Las variables de la encuesta fueron sometidas a selección para cada modelo utilizando regresión logística simple.

6.2.2.1. Factores de riesgo para la positividad de *S. enterica* en SPT

Tras el análisis univariado, fueron seleccionadas 7 variables: 3 cuantitativas y 4 categóricas. De las cuales fueron descartadas una categórica y una cuantitativa por presentar alta correlación y asociación, respectivamente. Las 5 variables restantes fueron utilizadas para la construcción y comparación de modelos de regresión logística multivariable. El modelo seleccionado para *S. enterica* se muestra en la Tabla 4.

En este modelo, se identificó un factor que presenta un *p-value* significativo, que corresponde al contacto de los animales del SPT con aves silvestres, observándose como un factor que disminuye el riesgo de positividad a *S. enterica* (*odds ratio* (OR) = 0.06; intervalo de confianza del 95% (IC-95%) = 0,00 – 0.064; $p = 0.02$), sugiriendo que aquellos animales de SPT que presentan contacto con aves silvestres poseen una disminución del 94% en el riesgo de ser *Salmonella*-positivos (Tabla 6).

Tabla 6. Modelo de factores de riesgo asociados a la positividad de *S. enterica* en SPT.

Variable	Categoría	β^1	<i>p-value</i>	OR ²	Lím. ³ Inferior	Lím. Superior
(Intercepto)		-0.720	0.352	0.486	0.106	2.221

N° de mascotas		-0.614	0.160	0.541	0.229	1.277
Contacto de animales con aves silvestres	Si	-2.830	0.019	0.059	0.005	0.636

¹Beta; ²Odds ratio; ³Límite.

6.2.2.2. Factores de riesgo para la positividad de STEC en SPT

Fueron 14 las variables seleccionadas por regresión logística simple: 5 cuantitativas y 9 categóricas. Dos variables cuantitativas y tres categóricas fueron descartadas por presentar correlación y asociación estadísticamente significativa, respectivamente. Las 9 variables restantes fueron utilizadas para la construcción y comparación de los modelos multivariable. Siendo seleccionado el modelo de STEC presentado en la Tabla 5.

En este modelo se identifica un factor con significancia estadística, que corresponde a la presencia de rumiantes en el SPT (OR = 1.03; IC-95% = 1.00 – 1.07; $p = 0.036$). Este factor presenta un OR mayor a 1, indicando que aumenta 1.03 veces el riesgo de que el SPT sea positivo a STEC (Tabla 7).

Tabla 7. Modelo de factores de riesgo para la positividad a *Escherichia coli* productora de Shigatoxina en SPT.

Variable	Categoría	β^1	<i>p-value</i>	OR²	Lím.³ Inferior	Lím. Superior
(Intercepto)		-3.611	7.00E-04	0.027	0.003	0.218
Rumiantes		0.037	0.036	1.038	1.002	1.075
Cobayos o conejos		0.119	0.132	1.126	0.964	1.316
Contacto de animales con aves silvestres	Si	1.232	0.251	3.429	0.417	28.179
Visita/apoyo estatal	Si	0.642	0.266	1.901	0.612	5.894

¹Beta; ²Odds ratio; ³Límite.

6.2.2.3. Factores de riesgo para la positividad de Enterobacterias en SPT

Las variables seleccionadas por regresión logística simple fueron 16: 3 cuantitativas y 13 categóricas. Una de las cuantitativas y tres categóricas fueron descartadas por presentar asociación. El modelo seleccionado de Enterobacterias se muestra en la Tabla 7.

En este modelo, existen 2 variables y categorías con *p-value* significativo, ambas con OR mayor que 1, por lo que representan factores que incrementan el riesgo de positividad de Enterobacterias en SPT. Estas variables corresponden a la presencia de rumiantes en el SPT (OR = 1.05; IC-95% = 1.02 – 1.09; *p* = 0.004), que aumenta 1.05 veces la probabilidad de que el SPT sea positivo; y que el responsable del manejo de los animales sea exclusivamente una mujer (OR = 3.54; IC-95% = 1.03 – 12.19; *p* = 0.045), que aumenta 3.54 veces la probabilidad de que el SPT sea positivo a Enterobacterias (Tabla 8).

Tabla 8. Modelo de factores de riesgo para la positividad de Enterobacterias (*S. enterica* y STEC) en sistemas productivos de traspatio.

Variable	Categoría	β^1	p-value	OR ²	Lím. ³ inferior	Lím. superior
(Intercepto)		-2.720	0.000	0.066	0.022	0.195
Rumiantes		0.051	0.004	1.052	1.016	1.089
Responsable del manejo	Hombre	0.885	0.213	2.422	0.603	9.732
	Mujer	1.265	0.045	3.542	1.029	12.193

¹Beta; ²Odds ratio; ³Límite.

6.3. Determinar el perfil de resistencia a antimicrobianos en aislados de *S. enterica* y STEC provenientes de SPT de las regiones de Valparaíso y Metropolitana

El análisis de concentración mínima inhibitoria (MIC) se pudo llevar a cabo en 14 aislados de STEC y 5 aislados de *S. enterica*. Los aislados de STEC provenían de 3 SPT de Melipilla, 2 SPT de Chacabuco y 1 SPT de Cordillera. Mientras que los aislados de *S. enterica* provenían de 2 SPT de Melipilla, 1 SPT de Maipo y 1 de Cordillera, todas provincias de la región Metropolitana. Los perfiles de resistencia antimicrobiana obtenidas del análisis de MIC se pueden observar en la Tabla 9.

Respecto a la frecuencia de estos perfiles de resistencia antimicrobiana, en STEC se identificaron 2 perfiles: el primero presenta resistencia únicamente a Cefalexina, encontrado en el 85.7% (12/14) de los aislados evaluados; y un segundo perfil que presenta resistencia a Cefalexina y a Cloranfenicol, encontrado en el 14.3% (2/14) de los aislados. Mientras que, para los aislados de *S. enterica* se identificaron 5 perfiles de RAM: el primero presenta resistencia a Cefalexina, Imipenem, Doxiciclina y Nitrofurantoina, con una frecuencia del 20% (1/5); el segundo presenta resistencia a Cefalexina, Cefovecina y Cloranfenicol, con una frecuencia del 20% (1/5); el tercer perfil presenta resistencia a Ampicilina, Amoxicilina con ácido clavulánico, Doxiciclina, Nitrofurantoina y Cloranfenicol, con una frecuencia entre los aislados del 20% (1/5); el cuarto perfil presenta resistencia a Ampicilina, Amoxicilina con ácido clavulánico, Ceftazidima, Doxiciclina, Nitrofurantoina y Cloranfenicol, y presenta una frecuencia del 20% (1/5); y el quinto perfil de resistencia corresponde a un aislado completamente sensible, con una frecuencia entre los aislados del 20% (1/5) (Tabla 9).

En cuanto a los aislados de *S. enterica*, un aislado resultó ser completamente sensible a todos los antimicrobianos evaluados. Mientras que, los 4 aislados restantes resultaron ser resistentes a múltiples antimicrobianos (MDR), presentando resistencia a Betalactámicos, Tetraciclinas, Nitrofuranos y Anfencicoles. Ninguno de los aislados de STEC presentó multirresistencia.

Tabla 9. Perfiles de resistencia antimicrobiana identificados en los aislados de *S. enterica* y STEC, según los resultados de MIC.

Patógeno (N° de aislados)	N° de aislados	Frec.	Perfil de resistencia antimicrobiana	N° de resistencias antimicrobianas
STEC (14)	12	85.7%	CLX	1
	2	14.3%	CLX, CFN	2
S. enterica (5)	1	20%	CLX, IMP, DXC, NTF	4
	1	20%	CLX, CVN, CFN	3
	1	20%	AMP, AMX, DXC, NTF, CFN	5
	1	20%	AMP, AMX, CTD, DXC, NTD, CFN	6
	1	20%	-	0

AMP: Ampicilina; AMX: Amoxicilina + ác. Clavulánico; CLX: Cefalexina; CVN: Cefovecina; CTD: Ceftazidima; IMP: Imipenem; DXC: Doxiciclina; NTF: Nitrofurantoina; CFN: Cloranfenicol.

En la comparación de proporciones entre provincias positivas con aislados resistentes a antimicrobianos, no se encontraron diferencias significativas.

7. Discusión de Resultados

Salmonella enterica y STEC son patógenos zoonóticos que pueden causar enfermedad potencialmente grave o letal en las poblaciones de riesgo. En ocasiones, tanto los responsables del manejo de los animales como los demás integrantes del grupo familiar pueden ser considerados población de riesgo, por su rango etario, estado reproductivo o presencia de comorbilidades que generen inmunosupresión. Estos grupos familiares pueden estar expuestos a estos patógenos debido al contacto directo e indirecto con los animales, sus deposiciones y los sub-productos que obtienen de ellos.

En el caso de *S. enterica*, se ha reportado principalmente en aves de corral y también en otros animales presentes en SPT como cerdos, ovinos y bovinos (Eng *et al.*, 2015; Barreto *et al.*, 2016; Alegria-Moran *et al.*, 2017), situación concordante con los resultados obtenidos en este estudio, ya que la positividad sólo se observó en aves de corral. En el caso de STEC, también se describe en diversas especies potencialmente reservorios, que pueden estar presentes en SPT, destacando a los rumiantes como los principales reservorios (Ferens & Hovde, 2011; Persad & LeJeune, 2014; Bryan *et al.*, 2015; Himsforth *et al.*, 2015). En este estudio se identificaron diversas especies animales involucradas en este diagnóstico, entre ellos aves de corral, rumiantes y porcinos.

Considerando toda la zona en estudio, regiones Metropolitana y de Valparaíso, la tasa de positividad de *S. enterica* en SPT fue de un 2.88%, resultado similar al 2.9% reportado en San Lorenzo, Paraguay en producciones que mantenían aves de diversas edades (Leotta *et al.*, 2010), situación comparable a los SPT en Chile que mantienen animales de diversos orígenes, razas y edades. Aunque la tasa de positividad reportada en este proyecto resulta superior a la de Entre Ríos, Argentina de un 0.06% (Rodríguez *et al.*, 2018), sigue siendo inferior a otros reportes realizados en el mundo como 6.44% en patos de

Bengala Occidental, India (Banerjee *et al.*, 2019); 10.4% en el sur de Australia (Manning *et al.*, 2015); 15.1% en aves del noroeste de Nigeria (Jibril *et al.*, 2020); 33% en el centro de Ecuador (Salazar *et al.*, 2019); y un 45.6% en Tien Giang, Vietnam (Trung *et al.*, 2017). Lo que implica que la situación sanitaria de *S. enterica* en Chile es buena al compararla con otros países, pero esto podría estar explicado por variables no analizadas en este estudio, relacionadas a condiciones climáticas, redes de interacciones o interacciones hospedero-patógeno.

En Chile, los datos reportados con anterioridad para la región Metropolitana fueron de 8.3%, mientras que se ha registrado un 6.6% en la región de Valparaíso y un 2.6% en la región del Libertador General Bernardo O'Higgins (Alegria-Moran *et al.*, 2017). Un estudio realizado en SPT en las cercanías de la Reserva Nacional "El Yali", San Antonio, región de Valparaíso, se encontró una tasa de positividad del 5% (Salas-Soto, 2016). En contraste, las tasas de positividad regionales determinadas en este proyecto fueron inferiores a las reportadas con anterioridad, determinándose un valor de 4.71% en la región Metropolitana y 0% en la región de Valparaíso, pero estos valores podrían estar subestimados debido al tipo de estudio realizado. Dado la baja tasa de positividad reportada para *S. enterica* en SPT, se sugieren reducir el área de estudio para aumentar el número de muestras por provincia o realizar estudios epidemiológicos longitudinales y así evitar subestimar la tasa de positividad real de la zona en estudio, como ocurrió en el estudio de Salas-Soto (2016), en el cuál determinaron prevalencias de *S. enterica* de 0 y 5% en SPT al analizar muestras en invierno y verano, respectivamente.

En la región Metropolitana, la provincia de Melipilla presentó una tasa de positividad del 5.88%, inferior a la reportada con anterioridad de 16.7% (Alegria-Moran *et al.*, 2017). Mientras que, las provincias de Maipo y Cordillera presentaron valores de 6.25% y 20%, respectivamente, hallazgos no descritos con anterioridad. Sin embargo, previamente se reportaron tasas de positividad en

la provincia de Chacabuco (9.1%) en la región Metropolitana, y en la provincia de San Antonio (20%) y San Felipe de Aconcagua (10%) en la región de Valparaíso (Alegria-Moran *et al.*, 2017), provincias que resultaron negativas en este estudio.

En esta tesis se aislaron 5 *S. enterica*, con 5 perfiles de resistencia antimicrobiana diferentes, siendo el 80% de ellos resistentes a múltiples fármacos (MDR). Entre los grupos de antimicrobianos a los que se reportó resistencia se encuentran los Betalactámicos (Ampicilina, Amoxicilina + ac. clavulánico, Cefalexina, Cefovecina, Ceftazidima e Imipenem), Tetraciclinas (Doxiciclina), Nitrofuranos (Nitrofurantoína) y Fenicoles (Cloranfenicol). La relevancia de este hallazgo radica en las limitaciones terapéuticas que podría implicar en los casos de enfermedad grave, y la posibilidad de transmisión de genes de resistencia a través de elementos genéticos móviles hacia bacterias previamente sensibles del mismo género u otros (Baquero *et al.*, 2019). Estos resultados son similares a los reportados en animales de SPT del norte de Tailandia; Australia; Maryland, Estados Unidos; Tien Giang, Vietnam; y Chile, donde hallaron cepas MDR de *S. enterica*, que presentaron resistencia al menos a Betalactámicos, Tetraciclinas y Fenicoles (Love *et al.*, 2015; Manning *et al.*, 2015; Peng *et al.*, 2016; Trung *et al.*, 2017; Banerjee *et al.*, 2019). Los aislados de *S. enterica* de este estudio presentaron resistencia principalmente a Betalactámicos, a diferencia de lo reportado en Chiang Mai, Tailandia, donde la resistencia fue principalmente contra Aminoglucósidos, seguida por Tetraciclinas y Betalactámicos (Anuchatkitcharoen *et al.*, 2020). Dentro de los Betalactámicos, se reportó resistencia a Penicilinas, Cefalosporinas de primera y tercera generación, y Carbapenémicos, que son considerados de importancia crítica en medicina humana en base a cinco criterios/factores de priorización según la OMS (OMS, 2019). En este estudio no se reportaron aislados productores de Betalactamasas, como sí ha sido reportado en SPT de India (Banerjee *et al.*, 2019). El 20% de los aislados de este estudio no presentó resistencia antimicrobiana, situación similar a la reportada por Salas Soto (2016) en SPT cercanos a la reserva nacional El

Yali. La diversidad de perfiles de resistencia podría atribuirse a la diversidad de orígenes de los animales de reemplazo, de su alimento, agua y al uso de antimicrobianos sin prescripción médica veterinaria en animales criados en SPT.

Por otro lado, la tasa de positividad de STEC reportada en SPT fue de un 14.39%, sin ser exclusivo de las especies rumiantes. Esta tasa de positividad es mayor al 0.5% reportado en SPT avícolas de Tien Giang, Vietnam (Trung *et al.*, 2016); al 5% en SPT del Valle de Culiacán, México (Amézquita-López *et al.*, 2012); y al 4.9% en porcinos, 5.4% en ovinos, 5.7% en caprinos y 10.3% en bovinos de granjas y mataderos de Ibadan, Nigeria (Ojo *et al.*, 2010). Pese a la baja tasa de positividad reportada en esos estudios, se describe en diversas especies animales mantenidas en SPT, al igual que en este estudio. La tasa de positividad reportada aquí es similar al 13.4% descrito en patos en Khaki Campbell, India y explotaciones ganaderas de Gyeonggi, Corea (Dong *et al.*, 2017; Banerjee *et al.*, 2019); y al 15.9% en aves de Guwahati, India (Neher *et al.*, 2016). Sin embargo, es considerablemente inferior al reportado de 56%, 71% y 100% en SPT de bovinos, búfalos y cabras de Vietnam, respectivamente (Vu-Khac *et al.*, 2008). En Chile existen reportes de STEC en mataderos, zoológicos y explotaciones ganaderas (Marchant *et al.*, 2016; Galarce *et al.*, 2019; Díaz *et al.*, 2021), pero la información sobre animales de SPT es escasa. Siendo las aves de corral las especies mantenidas con mayor frecuencia por sobre los cerdos y especies rumiantes, no se esperaba obtener una tasa de positividad de STEC cinco veces mayor a la de *S. enterica*, por lo que los resultados reportados en este estudio destacan la importancia de invertir en más investigación sobre este patógeno y su circulación en animales de SPT. Además, se destaca la necesidad de educar a la población respecto a los riesgos que conlleva el contacto con animales, dado que en casos clínicos de STEC en Indiana, Estados Unidos, determinaron que el 52% de los pacientes estuvo en contacto con animales de granja (Vachon *et al.*, 2020), y en Chile casi el 90% de los casos clínicos corresponden a niños menores de 10 años (ISP, 2017).

En este estudio se identificaron 2 perfiles de RAM en 14 aislados de STEC, ninguno correspondía a MDR, pero todos presentaron resistencia a Betalactámicos (Cefalexina) y el 14.3% de los aislados presentaron resistencia a Fenicoles (Cloranfenicol). No se encontraron aislados productores de Betalactamasas, ni resistentes a carbapenémicos ni Cefalosporinas de tercera generación, como sí fue reportado en animales de SPT de Shandong, China (Li *et al.*, 2019). Sin embargo, en rumiantes de SPT del Valle de Culiacán, México, reportaron aislados de STEC resistentes a Betalactámicos y Fenicoles al igual que en este estudio, aunque los perfiles de resistencia incluían otros grupos de antimicrobianos (Amézquita-López *et al.*, 2016). Las resistencias reportadas en este estudio no son parte de la categoría de antimicrobianos de importancia crítica para medicina humana de la OMS (2019).

Estudios previos han destacado la utilidad de la estadística de escaneo para detectar potenciales brotes de patógenos zoonóticos, como *S. enterica* y STEC, al aplicarse en datos georreferenciados de vigilancia epidemiológica en poblaciones humanas (So *et al.*, 2013; Graziani *et al.*, 2015; Varga *et al.*, 2015). El análisis puramente espacial bajo el modelo de Bernoulli utilizado en este estudio (Kulldorff, 2021), evaluó la georreferenciación de los SPT muestreados junto a su identificación como caso o control, permitiendo identificar un potencial *cluster* de alto número de casos de Enterobacterias en animales de SPT en la provincia de Cordillera con *p-value* cercano a la significancia estadística y con un riesgo relativo 6.75 veces mayor que el área circundante. Este tipo de análisis permite la vinculación temprana de casos para la detección de potenciales focos de enfermedad y promover la vigilancia de estos sitios, así como también permite la integración posterior de datos que permitan validar o desestimar los *clusters* encontrados (Paphitis *et al.*, 2020). La información proporcionada por este proyecto sugiere la necesidad de profundizar los análisis en la provincia de Cordillera, tanto para STEC como *S. enterica*, con el fin de identificar nuevos factores de riesgo para la presencia de estos patógenos en animales de SPT de

la zona o ayudar a las autoridades de salud pública a realizar intervenciones locales específicas (Tadesse *et al.*, 2018; Varga *et al.*, 2021).

Por otro lado, el análisis de indicadores locales de autocorrelación espacial identificó como *outlier* a la provincia de Santiago por presentar una baja tasa de positividad para *S. enterica* (0%) respecto a sus provincias vecinas con alta tasa de positividad, con un *p-value* cercano a la significancia estadística. La provincia de Santiago alberga al 73.8% de la población humana de la región Metropolitana (INE, 2018), y las provincias vecinas positivas a *S. enterica* corresponden a Cordillera (20%), Maipo (6.25%) y Melipilla (5.88%), las que concentran al 8.6, 7.0 y 2.6% de la población, respectivamente (BCN, s/f; INE, 2018). Considerando el número de SPT por provincia (INE, 2007), la tasa de SPT por cada 1000 habitantes es de 0.046 en Santiago, 0.38 en Cordillera, 1.27 en Maipo y 10.27 en Melipilla (datos no publicados). Contrastando el tamaño de la población humana con la cantidad de SPT, más las tasas de positividad reportadas en este trabajo, se destaca la necesidad de profundizar los estudios en SPT de estas provincias. Además, las provincias positivas anteriormente mencionadas, colindan con la región del Libertador General Bernardo O'higgins, no evaluada en este estudio, que podría ser importante analizar para estos patógenos, especialmente STEC. La unidad geopolítica evaluada en este estudio fueron las provincias, pero se debe tener en consideración que los patógenos no reconocen límites geopolíticos.

Respecto a los factores de riesgo, este estudio sugiere como factor que reduce el riesgo de positividad a *S. enterica* al potencial contacto de los animales del SPT con aves silvestres (OR = 0.06; IC-95% = 0.00 – 0.064; *p* = 0.02). Aunque las medidas de bioseguridad para las granjas comerciales señalan lo contrario, que el contacto de los animales productivos con fauna silvestre incrementaría el riesgo de transmisión de patógenos (Conan *et al.*, 2012), este resultado podría ser un indicador indirecto de la superficie de la cual disponen los animales para su desplazamiento, en la que potencialmente tendrían contacto con aves

silvestres. Una mayor superficie de desplazamiento podría implicar una mayor dispersión de las heces, disminuyendo la probabilidad de contacto de un animal susceptible con heces de un animal infectado, es decir, reduciendo la presión de infección del patógeno. Por otro lado, esta premisa, también podría tener relación con el tipo de confinamiento en que se encuentran los animales, siendo el de mayor frecuencia el confinamiento mixto (Pavez-Muñoz *et al.*, 2021 b). Sin embargo, en un estudio de Paraguay identificaron la ausencia de confinamiento de los animales como un factor que incrementa el riesgo (OR = 3.5; IC-95% = 1.2 – 10.3) (Leotta *et al.*, 2010), resultado esperado en base a las recomendaciones de bioseguridad (Conan *et al.*, 2012).

Por otro lado, en este estudio se identificó como factor que incrementa el riesgo de positividad a STEC a la crianza de especies rumiantes en el SPT (OR = 1,03; IC-95% = 1.00 – 1.07; p = 0.036), resultado esperado dada la alta prevalencia de STEC descrita en rumiantes alrededor del mundo (Kim *et al.*, 2020). Sin embargo, sigue siendo un resultado relevante al ser contrastado con las altas tasas de positividad reportadas en este estudio, y destaca la importancia de identificar, caracterizar y vigilar la crianza de especies animales, particularmente rumiantes, en SPT.

En el modelo de Enterobacterias se determinaron dos factores que incrementan el riesgo de positividad: la presencia de especies rumiantes en SPT (OR = 1.05; IC-95% = 1.02 – 1.09; p = 0.004) y que el responsable del manejo de los animales sea una mujer (OR = 3.54; IC-95% = 1.03 – 12.19; p = 0.045). Este último punto es relevante debido a que la mayoría de los responsables del SPT, son mujeres (Cornejo *et al.*, 2020; Pavez-Muñoz *et al.*, 2021), y de estas, un gran porcentaje son pensionadas, entiéndase como personas mayores de 60 años (Pavez-Muñoz, 2020). En Chile, es frecuente identificar mujeres dedicadas al trabajo doméstico, crianza/cuidado de personas, especialmente en el ámbito rural, mientras que los hombres suelen tomar el rol de sustentadores económicos del grupo familiar (Ballara *et al.*, 2009). La dedicación de tiempo al cuidado de

otros y a las labores domésticas, conlleva una reducción de tiempo de dedicación a los animales. En el sector silvoagropecuario, los hombres suelen tener mayor acceso a capacitaciones, permitiéndoles optar a mejores trabajos, mientras que las mujeres suelen postergar el ámbito laboral en su vida por dedicarse al cuidado de otros (Díaz Rojas, 2005), lo que podría estar implicando que los SPT manejados por mujeres sean menos tecnificados que los manejados por hombres. Adicionalmente, tanto las propietarias como las personas que están bajo sus cuidados pueden pertenecer a la población de riesgo por su estado reproductivo, edad o el padecimiento de comorbilidades. Hace 20 años, el porcentaje de mujeres analfabetas en zonas rurales de Chile era superior al 35% desde los 70 años en adelante. En el mismo informe reportaron que las mujeres rurales tenían un 19% de incorporación al mundo laboral, 48 puntos porcentuales menos que el hombre rural y 19 puntos porcentuales menos que las mujeres urbanas (Díaz Rojas, 2005). En la actualidad, en el sector silvoagropecuario el porcentaje de mujeres ocupadas corresponde a 24.2% del total de trabajadores, casi 52 puntos porcentuales por debajo de los hombres rurales (PRODEMU, 2021). En el mismo informe, estiman que el promedio de horas que trabajan las mujeres rurales que tienen trabajo remunerado, es de 13 horas/día, tanto dentro como fuera del hogar (PRODEMU, 2021). Estos factores pueden influir directamente en el tiempo de dedicación a los animales del SPT, limitándose a manejos básicos como la alimentación y liberación/confinamiento de los animales, resultando en la reducida o nula aplicación de medidas de bioseguridad e higiene.

Tanto los propietarios como los animales del SPT son poblaciones desatendidas. Esto destaca la necesidad de reducir las brechas de conocimiento del estatus sanitario de estas poblaciones para que la información esté disponible para futuros investigadores y autoridades, y así evidenciar la necesidad de aumentar los recursos destinados a caracterización y vigilancia de estas poblaciones humanas y animales con el enfoque de Una Salud. Además, se debe

atender la transferencia de conocimientos a la población de riesgo, particularmente la educación a niños a través de las escuelas y medios locales, dado que ellos son quienes participan más activamente en la educación del grupo familiar.

8. Conclusiones

Este estudio evidencia la circulación de cepas de *S. enterica* y STEC en diversas especies animales criados en SPT de la zona central de Chile. Adicionalmente, evidencia la circulación de cepas que presentan diversos perfiles de resistencia a antimicrobianos, siendo algunos completamente sensibles y otros multirresistentes.

Además, se evidenció la presencia de factores que modifican el riesgo de positividad de los SPT para ambos patógenos en la zona geográfica en estudio.

Y se destaca la importancia de continuar realizando estudios de epidemiología espacial en Chile para la visualización de patrones espaciales y determinación de *clusters* espaciales que contribuyen a la vigilancia epidemiológica de los patógenos circulantes.

9. Recomendaciones

En este estudio de corte transversal, se obtuvieron tasas de positividad de *S. enterica* inferiores a las reportadas con anterioridad para la misma zona geográfica. Mientras que, este es el primer proyecto que contempla determinar la circulación de STEC en SPT de la zona central de Chile, por lo que no existen otras referencias de este patógeno en SPT. Este tipo de estudios puede sobrestimar o subestimar la tasa de positividad real de una zona en estudio, aunque también puede ser a causa del número de muestras asignado proporcionalmente a cada unidad geopolítica, en este caso, provincias. Debido a esto, la recomendación para futuros estudios es realizar estudios de tipo longitudinal o reducir la zona geográfica en estudio para que el tamaño de muestra local sea mayor.

10. Bibliografía

ALDERS, R.G.; PYM, R.A.E. 2009. Village poultry: Still important to millions, eight thousand years after domestication. *Worlds. Poult. Sci. J.* 65(2):181–190.

ALEGRIA-MORAN, R.; RIVERA, D.; TOLEDO, V.; MORENO-SWITT, A.I.; HAMILTON-WEST, C. 2017. First detection and characterization of *Salmonella* spp. in poultry and swine raised in backyard production systems in central Chile. *Epidemiol. Infect.* 145(15):3180–3190.

AMÉZQUITA-LÓPEZ, B.A.; QUIÑONES, B.; COOLEY, M.B.; LEÓN-FÉLIX, J.; CAMPO, N.C. DEL; MANDRELL, R.E.; JIMÉNEZ, M.; CHAIDEZ, C. 2012. Genotypic Analyses of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 Recovered from Feces of Domestic Animals on Rural Farms in Mexico. *PLoS One.* 7(12):e51565.

AMÉZQUITA-LÓPEZ, B.A.; QUIÑONES, B.; SOTO-BELTRÁN, M.; LEE, B.G.; YAMBAO, J.C.; LUGO-MELCHOR, O.Y.; CHAIDEZ, C. 2016. Antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 recovered from domestic farm animals in rural communities in Northwestern Mexico. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2016 51. 5(1):1–6.

ANUCHATKITCHAROEN, C.; NUMEE, S.; BENDER, J.; AWAIWANONT, N.; INTANON, M. 2020. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from backyard pigs in Chiang Mai, Thailand. *Vet. Integr. Sci.* 18(3):193–204.

BALLARA, M.; PARADA, S. 2009. El empleo de las mujeres rurales. Lo que dicen las cifras. FAO-CEPAL.

BANERJEE, A.; BARDHAN, R.; CHOWDHURY, M.; JOARDAR, S.N.; ISORE, D.P.; BATABYAL, K.; DEY, S.; SAR, T.K.; BANDYOPADHYAY, S.; DUTTA,

T.K.; SAMANTA, I. 2019. Characterization of beta-lactamase and biofilm producing Enterobacteriaceae isolated from organized and backyard farm ducks. *Lett. Appl. Microbiol.* 69(2):110–115.

BAQUERO, F.; COQUE, T.M.; MARTÍNEZ, J.L.; ARACIL-GISBERT, S.; LANZA, V.F. 2019. Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance. *Front. Microbiol.* 10:2892.

BARRETO, M.; CASTILLO-RUIZ, M.; RETAMAL MERINO, P. 2016. *Salmonella enterica*: A review or the trilogy agent, host and environment and its importance in Chile. *Rev. Chil. Infectol*, 33(5), 547-557.

BARRETT, R.; KUZAWA, C.W.; MCDADE, T.; ARMELAGOS, G.J. 1998. EMERGING AND RE-EMERGING INFECTIOUS DISEASES: The Third Epidemiologic Transition. *Annu. Rev. Anthropol.* 27(1):247–271.

BASLER, C.; NGUYEN, T.A.; ANDERSON, T.C.; HANCOCK, T.; BEHRAVESH, C.B. 2016. Outbreaks of human *Salmonella* infections associated with live poultry, United States, 1990–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 22(10):1705–1711.

BEAM, A.; GARBER, L.; SAKUGAWA, J.; KOPRAL, C. 2013. *Salmonella* awareness and related management practices in U.S. urban backyard chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 110(3–4):481–488.

BIBLIOTECA DEL CONGRESO NACIONAL DE CHILE (BCN).
(s/f). Estadísticas Territoriales - SIIT.
<<https://www.bcn.cl/siit/estadisticasterritoriales/tema?id=95>> [consulta:
20-11- 2021].

BRENNER, F.W.; VILLAR, R.G.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. 2000. *Salmonella* nomenclature. *J. Clin. Microbiol*, 38(7), 2465-2467.

BRYAN, A.; YOUNGSTER, I.; MCADAM, A.J. 2015. Shiga Toxin Producing *Escherichia coli*. *Clin. Lab. Med.* 35(2), 247-272.

BUZAI, G.; BAXENDALE, C.; CACACE, G.; CALONI, N.; CRUZ, M.; HUMACATA, L.; PASO, L. 2013. Sistema de información geográfica (SIG) Teoría y aplicación 1° Edición. Universidad Nacional de Luján.

CAN, M.F.; ALTUĞ, N. 2014. Socioeconomic implications of biosecurity practices in small-scale dairy farms. *Vet. Q.* 34(2):67–73.

CANTAS, L.; SUER, K. 2014. Review: The important bacterial zoonoses in ‘One Health’ concept. *Front. Public Heal* 2:144.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 2019. 2019 Preliminary Data: Tables and Figure. <<https://www.cdc.gov/foodnet/reports/prelim-data-2019.html>> [consulta: 22-09-2021].

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 2020. Outbreak of *Salmonella* Infections Linked to Backyard Poultry | CDC. <https://www.cdc.gov/Salmonella/backyardpoultry-05-20/index.html> [consulta: 23-09-2021].

CEBULA, T.A.; PAYNE, W.L.; FENG, P. 1995. Simultaneous identification of strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and their Shiga-like toxin type by mismatch amplification mutation assay-multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33(1), 248-250.

CLINICAL & LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fifth Informational Suppl. M100-S25.

CONAN, A.; GOUTARD, F.L.; SORN, S.; VONG, S. 2012. Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries: A systematic review. *BMC Vet. Res.* 8(1):1–10.

CORNEJO, J.; POKRANT, E.; FIGUEROA, F.; RIQUELME, R.; GALDAMES, P.; DI PILLO, F.; JIMENEZ-BLUHM, P.; HAMILTON-WEST, C. 2020. Assessing Antibiotic Residues in Poultry Eggs from Backyard Production Systems in Chile, First Approach to a Non-Addressed Issue in Farm Animals. *Animals*. 10(6):1056.

CORREIA-GOMES, C.; HENRY, M.K.; AUTY, H.K.; GUNN, G.J. 2017. Exploring the role of small-scale livestock keepers for national biosecurity—The pig case. *Prev. Vet. Med.* 145:7–15.

CORREIA-GOMES, C.; SPARKS, N. 2020. Exploring the attitudes of backyard poultry keepers to health and biosecurity. *Prev. Vet. Med.* 174:104812.

CRUMP, J.A.; SJÖLUND-KARLSSON, M.; GORDON, M.A.; PARRY, C.M. 2015. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 28(4), 901-937.

DEPARTAMENTO DE ESTADÍSTICAS E INFORMACIÓN DE SALUD (DEIS). 2018. Brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimento (ETA). Años 2011-2017.

<https://public.tableau.com/app/profile/deis4231/viz/BrotosdeEnfermedadesTransmitidasporAlimentoETA_Aos2011-2017/BrotosETACHile2011-2017> [consulta: 25-09-2021].

DI PILLO, F.; ANRÍQUEZ, G.; ALARCÓN, P.; JIMENEZ-BLUHM, P.; GALDAMES, P.; NIETO, V.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2019. Backyard poultry production in Chile: animal health management and contribution to food access in an upper middle-income country. *Prev. Vet. Med.* 164:41–48.

DÍAZ ROJAS, C. 2005. *Mujeres Rurales en Chile*. Santiago, Chile.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. 2009. Veterinary Epidemiologic Research 2nd edn. VER inc., Charlottetown, PE, Canada.

DONG, H.J.; LEE, S.; KIM, W.; AN, J.U.; KIM, J.; KIM, D.; CHO, S. 2017. Prevalence, virulence potential, and pulsed-field gel electrophoresis profiling of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from cattle. Gut Pathog. 2017 91. 9(1):1–16.

DUZMAL, L.; DUARTE, A.; TAVARES, R. 2009. Extensions of the Scan Statistic for the Detection and Inference of Spatial Clusters. In: Glaz, J. & *et al.* (eds.). Scan Stat. Methods Appl. Stat. Ind. Technol. Birkhauser Boston, a part of Springer Science+Business Media, LLC, Boston, pp. 153–177.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA J. 17(12).

ENG, S.K.; PUSPARAJAH, P.; AB MUTALIB, N.S.; SER, H.L.; CHAN, K.G.; LEE, L.H. 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Front. Life Sci. 8(3):284–293.

ENGERING, A.; HOGERWERF, L.; SLINGENBERGH, J. 2013. Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. Emerg. Microbes Infect. 2(1):1–7.

FERENS, W.A.; HOVDE, C.J. 2011. *Escherichia coli* O157:H7: Animal reservoir and sources of human infection. Foodborne Pathog. Dis, 8(4), 465-487.

FICA, A.; ACOSTA, G.; DABANCH, J.; PERRET, C.; TORRES, M.; LÓPEZ, J.; JOFRÉ, L.; WEITZEL, T. 2012. Brotes de salmonelosis y el tamaño y rol del Estado en Chile. Rev. Chil. Infectol. 29(2):207–214.

FICA CUBILLOS, A.; ALEXANDRE S., M.; PRAT M., S.; FERNÁNDEZ R., A.; FERNÁNDEZ O., J.; HEITMANN G., I. 2001. Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. Rev. Chil. Infectol, 18(2), 85-93.

FLEMING, D.A.; ABLER, D.G.; GOETZ, S.J. 2010. Agricultural trade and poverty in Chile: a spatial analysis of product tradability. *Agric. Econ.* 41(6):545–553.

FUENZALIDA, M.; MIRANDA, M. 2011. La organización y distribución espacial de los servicios sanitarios en la región de Valparaíso. *Rev. geogr. Valpso.*(44):80–89.

GALARCE, N.; ESCOBAR, B.; SÁNCHEZ, F.; PAREDES-OSSES, E.; ALEGRÍA-MORÁN, R.; BORIE, C. 2019. Virulence Genes, Shiga Toxin Subtypes, Serogroups, and Clonal Relationship of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Livestock and Companion Animals. *Animals.* 9(10):733.

GRAZIANI, C.; LUZZI, I.; OWCZAREK, S.; DIONISI, A.M.; BUSANI, L. 2015. *Salmonella enterica* Serovar Napoli Infection in Italy from 2000 to 2013: Spatial and Spatio-Temporal Analysis of Cases Distribution and the Effect of Human and Animal Density on the Risk of Infection. *PLoS One.* 10(11):e0142419.

GRAZIANI, C.; LOSASSO, C.; LUZZI, I.; RICCI, A.; SCAVIA, G.; PASQUALI, P. 2017. *Salmonella*. in: *Foodborne Dis.* Third Ed. Elsevier Inc., pp. 133–169.

GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Paris.

HALE, C.R.; SCALLAN, E.; CRONQUIST, A.B.; DUNN, J.; SMITH, K.; ROBINSON, T.; LATHROP, S.; TOBIN-D'ANGELO, M.; CLOGHEL, P.; CLOGHER, P. 2012. Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 54(SUPPL.5), S472-S479.

HAMILTON-WEST, C.; ROJAS, H.; PINTO, J.; OROZCO, J.; HERVÉ-CLAUDE, L.P.; URCELAY, S. 2012. Characterization of backyard poultry production

systems and disease risk in the central zone of Chile. Res. Vet. Sci. 93(1):121–124.

HENNING, J.; HENNING, K.A.; MORTON, J.M.; LONG, N.T.; HA, N.T.; VU, L.T.; VU, P.P.; HOA, D.M.; MEERS, J. 2011. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in ducks and in-contact chickens in backyard and smallholder commercial duck farms in Viet Nam. Prev. Vet. Med. 101(3–4):229–240.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S.; STURDIVANT, R. 2013. Applied Logistic Regression. John Wiley & Sons, Vol. 398.

HOSMER, D.W.; HOSMER, T.; LE CESSIE, S.; LEMESHOW, S. 1997. A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model. Stat. Med. 16(9):965–980.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS (INE). 2007. Censo Agropecuario y Forestal. Santiago, Chile.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS (INE). 2018. SÍNTESIS DE RESULTADOS CENSO 2017.

IQBAL, M. 2009. Controlling avian influenza infections: The challenge of the backyard poultry. J. Mol. Genet. Med. 03(01):119.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISP). 2016. Boletín Vigilancia de Laboratorio *Salmonella* spp. 2012-2016.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISP). 2017. Boletín de Vigilancia de laboratorio de *E. coli* productora de toxina Shiga. Chile, 2010 - 2016, Vol. 7.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISP). 2019. Boletín de Vigilancia de Laboratorio *Salmonella* spp. 2014 - 2018, Vol. 9.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; GUIBOURDENCHE, M.; DE PINNA, E.; NAIR, S.; FIELDS, P.I.; WEILL, F.X.

2014. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. Res. Microbiol. 165(7):526–530.

JIBRIL, A.H.; OKEKE, I.N.; DALSGAARD, A.; KUDIRKIENE, E.; AKINLABI, O.C.; BELLO, M.B.; OLSEN, J.E. 2020. Prevalence and risk factors of *Salmonella* in commercial poultry farms in Nigeria. PLoS One. 15(9):e0238190.

JONES, B.A.; GRACE, D.; KOCK, R.; ALONSO, S.; RUSHTON, J.; SAID, M.Y.; MCKEEVER, D.; MUTUA, F.; YOUNG, J.; MCDERMOTT, J.; PFEIFFER, D.U. 2013. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 110(21):8399–8404.

JONES, K.E.; PATEL, N.G.; LEVY, M.A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J.L.; DASZAK, P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature. 451(7181):990–993.

KAUBER, K.; FOWLER, H.; LIPTON, B.; MESCHKE, J.S.; RABINOWITZ, P. 2017. *Salmonella* Knowledge, Attitudes and Practices: A Survey of Backyard Poultry Owners Residing in Seattle, Washington and the Surrounding Metropolitan Area. Zoonoses Public Health. 64(1):21–28.

KIM, J.S.; LEE, M.S.; KIM, J.H. 2020. Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. Front. Cell. Infect. Microbiol. 10:273.

KULLDORFF, M. 1997. A spatial scan statistic. Commun. Stat. Methods. 26(6):1481–1496.

KULLDORFF, M. 2021. SaTScan User Guide v10.0.

KULLDORFF, M.; NAGARWALLA, N. 1995. Spatial disease *clusters*: Detection and inference. Stat. Med. 14(8):799–810.

LEOTTA, G.; SUZUKI, K.; ALVAREZ, F.L.; NUÑEZ, L.; SILVA, M.G.; CASTRO, L.; FACCIOLI, M.L.; ZARATE, N.; WEILER, N.; ALVAREZ, M.; COPES, J. 2010.

Prevalence of *Salmonella* spp. in backyard chickens in Paraguay. *Int. J. Poult. Sci.* 9(6):533–536.

LI, J.; BI, Z.; MA, S.; CHEN, B.; CAI, C.; HE, J.; SCHWARZ, S.; SUN, C.; ZHOU, Y.; YIN, J.; HULTH, A.; WANG, Y.; SHEN, Z.; WANG, S.; WU, C.; NILSSON, L.E.; WALSH, T.R.; BORJESSON, S.; SHEN, J.; SUN, Q.; WANG, Y. 2019. Inter-host Transmission of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* among Humans and Backyard Animals. *Environ. Health Perspect.* 127(10).

LOVE, D.C.; THARAVICHITKUL, P.; ARJKUMPA, O.; IMANISHI, M.; HINJOY, S.; NELSON, K.; NACHMAN, K.E. 2015. Antimicrobial Use and Multidrug-Resistant *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, and *Enterococcus faecalis* in Swine from Northern Thailand. *Thai J. Vet. Med.* 45(1):43–53.

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMETER, G.; OLsoon-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D.L.; RICE, L.B.; STELLING, J.; STRUELENS, M.J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 18(3):268–281.

MAJOWICZ, S.E.; SCALLAN, E.; JONES-BITTON, A.; SARGEANT, J.M.; STAPLETON, J.; ANGULO, F.J.; YEUNG, D.H.; KIRK, M.D. 2014. Global incidence of human shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis. *Foodborne pathog. Dis.* 11(6), 447-455.

MALORNY, B.; HOORFAR, J.; BUNGE, C.; HELMUTH, R. 2003. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: Towards an international standard. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1):290–296.

MANNING, J.; GOLE, V.; CHOUSALKAR, K. 2015. Screening for *Salmonella* in backyard chickens. *Prev. Vet. Med.* 120(2):241–245.

MARIER, E.A.; SNOW, L.C.; FLOYD, T.; MCLAREN, I.M.; BIANCHINI, J.; COOK, A.J.C.; DAVIES, R.H. 2014. Abattoir based survey of *Salmonella* in finishing pigs in the United Kingdom 2006-2007. *Prev. Vet. Med.* 117(3–4):542–553.

MARTÍNEZ, M.C.; RETAMAL, P.; ROJAS-AEDO, J.F.; FERNÁNDEZ, J.; FERNÁNDEZ, A.; LAPIERRE, L. 2017. Multidrug-Resistant Outbreak-Associated *Salmonella* Strains in Irrigation Water from the Metropolitan Region, Chile. *Zoonoses Public Health.* 64(4):299–304.

MARTORI, J.; HOBERG, K.; MADARIAGA, R. 2008. X Coloquio Internacional de Geocrítica: Diez años de cambios en el mundo, en la Geografía y en las Ciencias Sociales, 1999-2008. La Inc. del Espac. en los Metod. estadísticos autocorrelación Espac. y Segreg. Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

NAUS, J. 1965. *Clustering of Random Points in Two Dimensions.* *J. Biometrika.* 52(1/2):263–267.

NEHER, S.; HAZARIKA, A.K.; BARKALITA, L.M.; BORAH, P.; BORA, D.P.; SHARMA, R.K. 2016. Isolation and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* of animal and bird origin by multiplex polymerase chain reaction. *Vet. World.* 9(2):123.

OJO, O.E.; AJUWAPE, A.T.P.; OTESILE, E.B.; OWOADE, A.A.; OYEKUNLE, M.A.; ADETOSOYE, A.I. 2010. Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *Int. J. Food Microbiol.* 142(1–2):214–221.

OLEA, A.; DÍAZ, J.; FUENTES, R.; VAQUERO, A.; GARCÍA, M. 2012. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Rev. Chil. Infectol.* 29(5):504–510.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2019. Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana (lista OMS de AIC).

PAPHITIS, K.; PEARL, D.L.; BERKE, O.; MCEWEN, S.A.; TROTZ-WILLIAMS, L. 2020. Detection of spatial, temporal and space-time *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Typhimurium clusters in Ontario in 2015, and comparisons to known outbreaks. *Zoonoses Public Health.* 67(6):617–628.

PAVEZ-MUÑOZ, E.; GONZÁLEZ, C.; FERNÁNDEZ-SANHUEZA, B.; SÁNCHEZ, F.; ESCOBAR, B.; RAMOS, R.; FUENZALIDA, V.; GALARCE, N.; ARRIAGADA, G.; NEIRA, V.; MUÑOZ-AGUAYO, J.; FLORES-FIGUEROA, C.; JOHNSON, T.J.; ALEGRÍA-MORÁN, R. 2021a. Antimicrobial Usage Factors and Resistance Profiles of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Backyard Production Systems From Central Chile. *Front. Vet. Sci.* 7, 1206.

PAVEZ-MUÑOZ, E.; FERNÁNDEZ-SANHUEZA, B.; URZÚA-ENCINA, C.; GALARCE, N.; ALEGRÍA-MORÁN, R. 2021b. Risk Factors for Positivity to Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* in Backyard Production Systems Animals from Metropolitana Region, Chile: A Threat to Public Health?. *Int. J. Environ. Res. Public Heal.* 2021, Vol. 18, Page 10730. 18(20):10730.

PAVEZ-MUÑOZ, E.I. 2020. CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE *Salmonella enterica* Y *Escherichia coli* SHIGATOXIGÉNICA EN SISTEMAS PRODUCTIVOS DE TRASPATIO EN LA REGIÓN METROPOLITANA, AÑO 2019. Tesis título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Vet. Pec.

PERSAD, A.K.; LEJEUNE, J.T. 2014. Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiol. Spectr.* 2(4).

PFEIFFER, D.; ROBINSON, T.; STEVENSON, M.; STEVENS, K.; ROGERS, D.; CLEMENTS, A. 2008. Spatial Analysis in Epidemiology First. Oxford University Press.

PLOWRIGHT, R.K.; PARRISH, C.R.; MCCALLUM, H.; HUDSON, P.J.; KO, A.I.; GRAHAM, A.L.; LLOYD-SMITH, J.O. 2017. Pathways to zoonotic spillover. Nat. Rev. Microbiol, 15(8), 502-510.

PROMOCIÓN Y DESARROLLO DE LA MUJER (PRODEMU). 2021. Mujeres en la Agricultura Familiar Campesina en Chile.

R_CORE_TEAM. 2013. R: A language and environment for statistical computing.

RIVAS, M.; CHINEN, I.; MILIWEBSKY, E.; MASANA, M. 2014. Risk Factors for Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*-Associated Human Diseases. Microbiol. Spectr. 2(5).

RODRÍGUEZ, F.I.; PASCAL, D.C.; PULIDO, D.; OSINALDE, J.M.; CAFFER, M.I.; BUENO, D.J. 2018. Prevalence, antimicrobial resistance profile and comparison of selective plating media for the isolation of *Salmonella* in backyard chickens from Entre Rios, Argentina. Zoonoses Public Health. 65(1):95–101.

ROTHMAN, K. 2012. Epidemiology: An introduction Second edi. New York.

SAEEDI, P.; YAZDANPARAST, M.; BEHZADI, E.; SALMANIAN, A.H.; MOUSAVI, S.L.; NAZARIAN, S.; AMANI, J. 2017. A review on strategies for decreasing *E. coli* O157:H7 risk in animals. Microb. Pathog, 103, 186-195.

SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (SAG). 2016. Bioseguridad en la Avicultura Familiar Campesina. Manual de Procedimiento n°7.

SALAS SOTO, R.A. 2016. *Salmonella* spp, resistencia a antimicrobianos y caracterización de medidas de bioseguridad en sistemas productivos de traspatio vecinos a La Reserva Nacional El Yali. Tesis de título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U Chile. Fc Cs Vet y Pec.

SALAZAR, G.A.; GUERRERO-LÓPEZ, R.; LALALEO, L.; AVILÉS-ESQUIVEL, D.; VINUEZA-BURGOS, C.; CALERO-CÁCERES, W. 2019. Presence and diversity of *Salmonella* isolated from layer farms in central Ecuador.

SAMANTA, I.; JOARDAR, S.N.; DAS, P.K. 2018. Biosecurity Strategies for Backyard Poultry: A Controlled Way for Safe Food Production. Food Control Biosecurity. Elsevier Inc., Vol. 16pp. 481–517.

SMITH, J.L.; FRATAMICO, P.M. 2017. *Escherichia coli* as a Pathogen. In: Foodborne Dis. Third Ed. Elsevier Inc., pp. 189–103.

SMITH, J.L.; FRATAMICO, P.M. 2018. Emerging and Re-Emerging Foodborne Pathogens. Foodborne Pathog. Dis, 15(12), 737-757.

SO, H.C.; PEARL, D.L.; VON KÖNIGSLÖW, T.; LOUIE, M.; CHUI, L.; SVENSON, L.W. 2013. Spatio-Temporal Scan Statistics for the Detection of Outbreaks Involving Common Molecular Subtypes: Using Human Cases of *Escherichia coli* O157:H7 Provincial PFGE Pattern 8 (National Designation ECXA1.0001) in Alberta as an Example. Zoonoses Public Health. 60(5):341–348.

SOLER-TOVAR, D.; BENAVIDES-ARIAS, D. 2017. Interfaz ecosistema-humano-animal: definiciones y contexto. Conex. la salud Glob. Ecosistemas, Anim. y humanos. Bogotá, pp. 27–39.

SUZUKI, K.; LEOTTA, G.; ALVAREZ, F.L.; NUÑEZ, L.; SILVA, M.G.; CASTRO, L.; FACCIOLI, M.L.; ZARATE, N.; WEILER, N.; ALVAREZ, M.; COPES, J. 2010. Prevalence of *Salmonella* Spp. in Backyard Chickens in Paraguay. Int. J. Poult. Sci. 9(6):533–536.

TADESSE, S.; ENQUESELASSIE, F.; HAGOS, S. 2018. Spatial and space-time clustering of tuberculosis in Gurage Zone, Southern Ethiopia. PLoS One. 13(6):e0198353.

THRUSFIELD, M. 2003. Veterinary epidemiology 3rd. edition. Blackwell Science Ltd., Oxford.

THRUSFIELD, M. 2018. Veterinary Epidemiology 4th edition. John Wiley & Sons.

TRUNG, N.V.; NHUNG, H.N.; CARRIQUE-MAS, J.J.; MAI, H.H.; TUYEN, H.T.; CAMPBELL, J.; NHUNG, N.T.; MINH, P.V.; WAGENAAR, J.A.; MAI, N.T.N.; HIEU, T.Q.; SCHULTSZ, C.; HOA, N.T. 2016. Colonization of Enteroaggregative *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in chickens and humans in southern Vietnam. BMC Microbiol. 2016 161. 16(1):1–6.

TRUNG, N. V.; CARRIQUE-MAS, J.J.; NGHIA, N.H.; TU, L.T.P.; MAI, H.H.; TUYEN, H.T.; CAMPBELL, J.; NHUNG, N.T.; NHUNG, H.N.; MINH, P.V.; CHIEU, T.T.B.; HIEU, T.Q.; MAI, N.T.N.; BAKER, S.; WAGENAAR, J.A.; HOA, N.T.; SCHULTSZ, C. 2017. Non-Typhoidal *Salmonella* Colonization in Chickens and Humans in the Mekong Delta of Vietnam. Zoonoses Public Health. 64(2):94–99.

ULLOA BELLO, M.A. 2016. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS EN CHILE: AGENTES CAUSANTES Y FACTORES CONTRIBUYENTES ASOCIADOS A BROTES OCURRIDOS DURANTE EL AÑO 2013. Tesis de Magíster. Santiago, Chile. U Chile, Fc Cs Vet y Pec.

VACHON, M.S.; KHALID, M.; TARR, G.A.M.; HEDBERG, C.; BROWN, J.A. 2020. Farm animal contact is associated with progression to Hemolytic uremic syndrome in patients with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* - Indiana, 2012-2018. One Heal. 11, 100175.

VAN DOORN, H.R. 2014. Emerging infectious diseases. Med. 42(1), 60-63.

VARGA, C.; PEARL, D.L.; MCEWEN, S.A.; SARGEANT, J.M.; POLLARI, F.; GUERIN, M.T. 2015. Spatial-temporal epidemiology of human *Salmonella*

Enteritidis infections with major phage types (PTs 1, 4, 5b, 8, 13, and 13a) in Ontario, Canada, 2008-2009. *BMC Public Health*. 15(1):1–16.

VARGA, C.; JOHN, P.; COOKE, M.; MAJOWICZ, S.E. 2021. Area-Level *Clustering* of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections and Their Socioeconomic and Demographic Factors in Ontario, Canada: An Ecological Study. *Foodborne Pathog. Dis.* 18(7):438–447.

VU-KHAC, H.; CORNICK, N.A. 2008. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Vet. Microbiol.* 126(4):356–363.

WIBISONO, F.M.; WIBISONO, F.J.; EFFENDI, M.H.; PLUMERIASTUTI, H.; HIDAYATULLAH, A.R.; HARTADI, E.B.; SOFIANA, E.D. 2020. A review of salmonellosis on poultry farms: Public health importance. *Syst. Rev. Pharm*, 11(9), 481-486.

WONG, J.T.; DE BRUYN, J.; BAGNOL, B.; GRIEVE, H.; LI, M.; PYM, R.;ALDERS, R.G. 2017. Small-scale poultry and food security in resource-poor settings: A review. *Glob. Food Sec*, 15, 43-52.

11. Anexos

Anexo 1: Certificado de bioseguridad FAVET-UChile

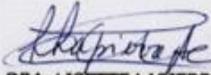

Universidad de Chile
favet
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

CERTIFICADO N° 117

Santiago, 18 mayo, 2018

El Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, se encuentra revisado el proyecto, titulado "Breaking the gaps in the knowledge of integrated backyard systems as a key factor for promoting the national Public and Animal Health: Epidemiologic and microbiologic characterization of Salmonella enterica and Shiga toxin-producing Escherichia coli in animals raised in a high-risk population from central Chile", cuyo Investigador Responsable es el Dr. Raúl Alegria-Morán., de FAVET. El proyecto será presentado para evaluación en el concurso FONDECYT de Iniciación 2018.

El proyecto se evaluará en relación a si cumple las normas de bioseguridad, las que se encuentran descritas en el mismo y en el formulario de solicitud de certificados de bioseguridad de FAVET, y que son las adecuadas según las especificaciones contenidas en el "Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, de la Organización Mundial de la Salud (versión 2005)" y en el "Manual de Bioseguridad de Conicyt" (versión 2008), que previenen los riesgos para las personas, los animales y el medioambiente.


DRA. LISETTE LAPIERRE A.
Coordinadora
Comité de Bioseguridad
FAVET


UNIVERSIDAD DE CHILE
COMITÉ
BIOSEGURIDAD
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

Anexo 2: Certificado de bioética CICUA-UChile



Santiago, a 27 de noviembre de 2018

Certificado n°: 18205-VET-UCH

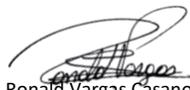
CERTIFICADO

El Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile, certifica que en el Protocolo 17-2018, del Proyecto de Investigación titulado: “**Rompiendo las brechas en el conocimiento sobre Sistemas integrados de traspatio (IBS), como factores clave en la promoción de la salud pública y animal: Caracterización microbiológica y epidemiológica de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* shiga-toxigénica (STEC) en animales criados en poblaciones de alto riesgo de Chile Central**”, del Sr. **Raúl Alejandro Alegría Morán**, Investigador Responsable y cuyo Académico Patrocinador es el **Dr. José Manuel Yáñez**, Profesor Asociado, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, no se plantean acciones en sus procedimientos que contravengan las normas de Bioética de manejo y cuidado de animales, así mismo la metodología experimental planteada satisface lo estipulado en el Programa Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile.

Ambos investigadores se han comprometido a la ejecución de este proyecto dentro de las especificaciones señaladas en el protocolo revisado y autorizado por el CICUA, a mantener los procedimientos experimentales planteados y a no realizar ninguna modificación sin previa aprobación por parte de este Comité.

Se otorga la presente certificación para el uso de un total de **3.474 aves (gallinas, patos, gansos) y 3.088 mamíferos domésticos (porcinos, caprinos, ovinos, bovinos, equinos, caninos y felinos)**, provenientes de Sistemas Integrados de Traspatio de las regiones de Valparaíso, Metropolitana y Libertador Bernardo O’Higgins, desde noviembre de 2018 a octubre de 2021, tiempo estimado de ejecución del estudio, el cual será financiado por **Proyecto Fondecyt de Iniciación en la Investigación Nro. 11180476**.

El CICUA de la Universidad de Chile, forma parte de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, y está constituido por 53 miembros: 5 médicos veterinarios, 39 académicos (12 de ellos médicos veterinarios), y 9 miembros no asociados a la academia o investigación, y que cuentan con experiencia en bioética relacionada a mantención y uso de animales. El certificado que emite el Comité procede de la aprobación del “Protocolo de Manejo y Cuidado de Animales” después de un estudio acucioso y de la acogida de los investigadores de las observaciones exigidas por el Comité.


Ronald Vargas Cásanova
Director
CICUA – VID
Universidad de Chile




Dr. Emilio Herrera Videla
Presidente
CICUA - VID
Universidad de Chile

Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA)
Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) – Universidad de Chile
www.uchile/cicua.cl email: coordinador.cicua@uchile.cl

Anexo 3: Protocolo cultivo de *S. enterica*

a. Pre-enriquecimiento

Este proceso se realiza utilizando un caldo de agua peptonada fosfatada (APT, Difco®). Este medio de cultivo fue incorporado en una cantidad de 5 mL en tubos de ensayo de tapa rosca, en el cual se agregó la muestra tomada a partir de la tórcula, y se llevó a incubar a 37 °C por 24 horas. De lo anterior se espera la obtención de un depósito blanquecino en el fondo del tubo, que estaría indicando desarrollo bacteriano en el caldo.

b. Enriquecimiento

Para este proceso se utilizó el medio Rappaport Vassiliadis semisólido modificado (MSRV, Oxoid®). De las muestras cultivándose en APT, se extrajeron 200 µL de líquido en suspensión, para inocular tres gotas en un agar compuesto por el reactivo mencionado. Esto se incubó por 24 a 48 horas a 42 °C. En esta etapa se detectarán serotipos móviles de *Salmonella* spp. De esta siembra, posterior a las horas de cultivo, se busca la observación de un halo de crecimiento blanquecino y opaco alrededor de los puntos de siembra. Cuando esto ocurrió, la muestra se considerará sospechosa, es decir, es una muestra que potencialmente tiene cepas móviles de *Salmonella* spp. Las muestras negativas fueron aquellas en donde el agar permaneció azul.

c. Aislamiento selectivo

Para esta etapa se utilizó agar Xylose Lysine Deoxycholate (XLD, Difco®). El objetivo de este proceso es hacer la diferenciación de *Salmonella* spp. en base a la fermentación de xilosa, lactosa y sacarosa, mediante una siembra por agotamiento en el agar, a partir de las placas de MSRV que resulten sospechosas. Para la siembra se utilizó un asa estéril para extraer material de las placas de MSRV a partir del borde del halo sospechoso, la placa fue a la estufa de cultivo por 24 horas a 37 °C. Posterior al cultivo, se consideró como positiva aquella placa que presente colonias concéntricas de color negro o rojo, sin viraje de color del agar, compatibles con el agente pesquisado.

Anexo 4: Partidores de PCR para *S. enterica*

Partidores, secuencia y tamaño del producto esperado para la confirmación de positividad a *Salmonella* spp. (Tabla 10).

Tabla 10. Partidores PCR *Salmonella* spp.

Gen objetivo	Partidor	Secuencia (5' – 3')	Producto (pb)	Referencia
<i>invA</i>	F	GTGAAATTATCGCCGCGTTTCGGGCAA	284	Kaushik <i>et al.</i> , 2016
	R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		

F: forward; R: reverse

Anexo 5: Protocolo de cultivo y Partidores de PCR de STEC

a. Pre-enriquecimiento

Las muestras colectadas se depositaron en tubos de ensayo que contengan 5 mL de caldo de soya tripticasa (TSB por sus siglas en inglés), éstos se incubarán a 42°C por 18 a 24 horas.

b. Enriquecimiento y Aislamiento

Se tomó una alícuota del homogeneizado y se sembró en agar McConkey. Esto se incubó a 37°C por 18 a 24 horas. De esta placa se tomó un inóculo desde el área confluyente de crecimiento bacteriano para realizar el PCR, de acuerdo con los protocolos previamente descritos (Cebula *et al.*, 1995).

Los partidores, secuencias y tamaño del producto esperado para la confirmación de positividad a STEC se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Partidores PCR STEC.

Gen objetivo	Partidor	Secuencia (5' – 3')	Producto (pb)	Referencia
<i>Stx1</i>	F	CAGTTAATGTGGTGGCGAAGG	348	

	R	CACCAGACAATGTAACCGCTG	Cebula <i>et</i>
			<i>al.</i> , 1995
<i>Stx2</i>	F	ATCCTATTCCCGGGAGTTTACG	Cebula <i>et</i>
			<i>al.</i> , 1995
		584	
	R	GCGTCATCGTATACACAGGAGC	

F: forward; R: reverse

Anexo 6: Cuestionario



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Departamento de Medicina Preventiva Animal
Proyecto FONDECYT Iniciación 11180476

ID_SPT:

I ANTECEDENTES GENERALES

0 Fecha: ____/____/____

1 ID_SPT: _____

2 Nombre contacto: _____

3 Teléfono cto: _____

4 Región: _____

5 Provincia: _____

6 Objetivo del SPT: a. Pecuario: ___
b. Agrícola: ___
c. Forestal: ___
e. Mixto: ___
f. Otro: ___

II ASPECTOS SOCIALES

7 Actividad primaria sostenedor: _____

8 Composición del grupo familiar: _____

9 Cuán importante son sus animales para la economía del hogar _____ (Escala de 1 a 5?)

III CONDICIONES DE MANEJO

10 Especies productivas: a. Aves: ___ b. Cerdos: ___ c. Otros domésticos: ___ d. Mascotas: ___
¿Cuáles? _____ ¿Cuáles? _____ ¿Cuáles? _____

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

Objetivo cerdos
a. Autoconsumo: ___
b. Venta: ___
c. Autoconsumo- Venta: ___
d. Tenencia de cerdos como mascota: ___

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

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

¿Cuántos cerdos tiene al momento de la encuesta?

	machos	hembras	total
Adulto			
Juvenil			
Reproductor			
Lechones			

13 Nº Gallinas _____
Nº Gallos _____
Nº pollitos _____

Presta reproductor cerdos
a. Si ___
b. No ___
c. No Aplica ___

14 **Movimiento Reproductor**
a. Entra ___
b. Sale ___
c. No Aplica ___

15 **Cobro Monta Cerdo**
a. Lechón ___
b. Dinero ___
c. No aplica ___

16 **Última crianza aves**
a. Actual ___
b. 0 a 1 año atrás ___
c. 2 a 5 años atrás ___
d. Más de 5 años atrás ___

Última crianza cerdos
a. Actual ___
b. 0 a 1 año atrás ___
c. 2 a 5 años atrás ___
d. Más de 5 años atrás ___

17	¿Hace cuánto tiempo cría: ¿Aves? a. Menos de 2 años: ___ b. Entre 2 y 10 años: ___ c. Entre 11 y 20 años: ___ d. Más de 20 años: ___	¿Cerdos? a. Menos de 2 años: ___ b. Entre 2 y 10 años: ___ c. Entre 11 y 20 años: ___ d. Más de 20 años: ___
18	Responsable del manejo aves: a. Hombre: ___ b. Mujer: ___ c. Hijo(a): ___ d. Familia: ___	Responsable del manejo cerdos: a. Hombre: ___ b. Mujer: ___ c. Hijo(a): ___ d. Familia: ___
19	Responsable comercialización aves: a. Hombre: ___ b. Mujer: ___ c. Hijo(a): ___ d. Familia: ___ e. No aplica ___	Responsable comercialización cerdos a. Hombre: ___ b. Mujer: ___ c. Hijo(a): ___ d. Familia: ___ e. No aplica ___
20	¿Cuál es el nivel de confinamiento de las aves? a. Libre: _____ b. Permanente: _____ c. Mixto: _____	¿Cuál es en nivel de confinamiento de los cerdos? a. Libre: _____ b. Permanente: _____ c. Mixto: _____
21	¿Varía el número de aves en el año? ¿Cuándo hay más? a. Primavera/Verano: ___ b. Otoño/Invierno: ___ c. No varía: ___	¿Varía número cerdos en el año? ¿Cuándo hay más? a. Primavera/Verano: ___ b. Otoño/Invierno: ___ c. No varía: ___
22	¿Cómo obtiene los reemplazos de las aves? a. Reemplazos Propios: ___ b. Compra a vecinos: ___ c. Compra en ferias: ___ d. Compra a plánteles comerciales: ___ e. Obtenidos mediante proyectos del estado: ___ f. Compra intermediario: ___	Intercambia huevos embrionados? Si _____ No _____
23	¿Cómo obtiene los reemplazos de los cerdos? a. Reemplazos Propios: ___ b. Compra a vecinos: ___ c. Compra en ferias: ___ d. Compra a plánteles comerciales: ___ e. Obtenidos mediante proyectos del estado: ___ f. Compra intermediario: ___	¿Cómo obtiene los reemplazos de los cerdos? a. Reemplazos Propios: ___ b. Compra a vecinos: ___ c. Compra en ferias: ___ d. Compra a plánteles comerciales: ___ e. Obtenidos mediante proyectos del estado: ___ f. Compra intermediario: ___
23	OBSERVAR Presencia Broiler/Ponedoras (pico cortado) a. Si ___ b. No ___	OBSERVAR Presencia Cerdos cola cortada a. Si ___ b. No ___
24	¿En que consiste el alimento de las aves? a. Restos del hogar: ___ b. Alimento de aves: ___ c. Forrajeo de las aves: ___ d. Cereales (Ej: maíz): ___	¿En que consiste el alimento de los cerdos? a. Restos del hogar: ___ b. Alimento de cerdos: ___ c. Forrajeo de los cerdos: ___ d. Cereales (Ej: harinilla): ___
25	¿De donde proviene el agua que suministra a las aves? a. Pozo: ___ b. Canal: ___ c. Potable: ___ d. No le da: ___	¿De donde proviene el agua que suministra a cerdos? a. Pozo: ___ b. Canal: ___ c. Potable: ___ d. No le da: ___
26	¿Qué hace con las aves muertas? a. Entierra: ___ b. Quema: ___ c. A la basura: ___ d. Arroja lejos de la casa: ___ e. Autoconsumo/ venta: ___ f. Nada: ___	¿Qué hace con los cerdos muertos? a. Entierra: ___ b. Quema: ___ c. A la basura: ___ d. Arroja lejos de la casa: ___ e. Auto consumo/venta: ___ f. Nada: ___
27	¿Reconoce alguna enfermedad en las aves. Signología? _____ _____	¿Reconoce alguna enfermedad en cerdos? Signología? _____ _____
28	¿Qué hace si reconoce un ave enferma? _____ _____	¿Qué hace si reconoce un cerdo enfermo? _____ _____
29	¿Realiza algún tipo de manejo Sanitario o tratamiento a las aves? a. Farmacos: ___ b. Productos naturales: ___ c. No realiza: ___	¿Realiza algún manejo sanitario/tratamiento a cerdos? a. Farmacos: ___ b. Productos naturales: ___ c. No realiza: ___

30	Fármacos administrados a las aves: _____	Fármacos administrados a los cerdos: _____
31	¿Vacuna a las aves? a. Si: ___ b. No: ___	¿Vacuna a los cerdos? a. Si: ___ b. No: ___
32	¿Aves reciben la visita de algún veterinario o técnico? a. Una vez al año: ___ b. Mas de una vez al año: ___ c. No reciben: ___	¿Cerdos reciben la visita de algún veterinario o técnico? a. Una vez al año: ___ b. Mas de una vez al año: ___ c. No reciben: ___

III BIOSEGURIDAD

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

IV ASPECTOS COMERCIALES

49	¿Qué productos obtiene de las aves y cual es el más importante ? a. Carne: ___ b. Huevos: ___ c. Aves vivas: ___ d. Guano: ___	¿Qué producto obtenido de los cerdos es el más importante ? a. kg animal: ___ b. Lechones: ___ c. Otros: ___
50	¿Cuántos huevos recoge al día? _____	
51	¿Cuál es el precio? Huevos: _____ Aves Vivas: _____ Carne: _____ Guano: _____ Otro: _____	¿Cuál es el precio? Carne: _____ Lechones: _____ Otros: _____

52	¿A qué destina el ingreso obtenido de aves? a. Alimento Aves _____ b. Gastos del hogar _____ c. Ropa _____ d. Escuela niños _____ e. Otro _____	¿A qué destina el ingreso obtenido de cerdos? a. Alimento Cerdos _____ b. Gastos del hogar _____ c. Ropa _____ d. Escuela niños _____ e. Otro _____
53	Si vende, ¿Cuál es su principal mercado? a. Vecinos/ Familia: _____ b. Turistas: _____ c. Mercados locales: _____ d. Intermediario: _____ e. Mas de un mercado: _____ f. Restaurante: _____	¿Si vende, ¿Cuál es su principal mercado? a. Vecinos/ Familia: _____ b. Turistas: _____ c. Mercados locales: _____ d. Intermediario: _____ e. Mas de un mercado: _____ f. Restaurante: _____
54	¿Cuánto huevos vende al mes? _____	¿Cuánto cerdos vende al año (o temporada)? _____
55	¿Cuántas aves vivas vende al mes? _____	¿De cuántos kilos? _____
56	¿Cuántos huevos come a la semana? _____	¿Cuántos cerdos faena al año? _____
57	¿Cuántas aves faena a la semana? _____	
58	¿Cuántos huevos (mercado) compra al mes? _____	
59	¿Cuánta carne ave compra al mes? _____	
60	¿Cuánto gasta en alimentar aves al mes? _____	¿Cuánto gasta en alimentar cerdo al mes? _____
61	Animales reciben inspección o visitas del SAG: a. Si: _____ b. No: _____	
62	Si recibe visitas del SAG: ¿SAG toma Muestras? a. Si: _____ b. No: _____	
63	¿SAG le envía los resultados? c. Si: _____ d. No: _____	
64	¿SAG regresa al SPT? e. Si: _____ f. No: _____	
65	Animales reciben inspección o visitas de INDAP/PRODESAL: a. Si: _____ b. No: _____ Alguno de los miembros del grupo familiar a presentado algunos de los siguientes signos y/o sintomas durante el ultimo mes:	
66	Diarrea a. Si: _____ b. No: _____	
67	Fiebre a. Si: _____ b. No: _____	
68	Vomitos a. Si: _____ b. No: _____	
69	Inapetencia a. Si: _____ b. No: _____	
70	Dolor muscular a. Si: _____ b. No: _____	
71	Personas con cuadros digestivos tienen la posibilidad de manipular los animales? a. Si: _____ b. No: _____	
72	Las mascotas son indoor? a. Si: _____ b. No: _____	
73	Las mascotas, tiene acceso a los desechos de las aves? a. Si: _____ b. No: _____	
74	Existe contacto entre los animales mantenidos en SPT (entre las distintas especies)	

75	a.Si:___ b.No:___ Existe contacto entre las aves del SPT y @ de vecinos (mascotas) a.Si:___ b.No:___
----	--

V DATOS DE LA MUESTRA

Tipo muestra aves: a.Tórula cloacal:___
 Tipo muestra otros @: a.Tórula rectal:___

Tipo muestra cerdos: a.Tórula rectal:___

Datos de los animales:

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7

- 8
- 9
- 10
- 11
- 12

Anexo 7: Consentimiento informado

Consentimiento informado

Proyecto: "Breaking the gaps in the knowledge of integrated backyard systems as a key factor for promoting the national Public and Animal Health: Epidemiologic and microbiologic characterization of *Salmonella enterica* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in animals raised in a high-risk population from central Chile".

Investigador principal: Raúl A. Alegría Morán

Institución: Universidad de Chile

Teléfono de contacto: +56 9 98223891

Email: ralegria@veterinaria.uchile.cl

Invitación a participar: Por medio de la presente, le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "**Rompiendo las brechas de conocimiento en sistemas integrados de traspatio (SIT), como un factor clave en la promoción de la Salud Pública y Animal nacional: Caracterización epidemiológica y microbiológica de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de shiga-toxina, en animales**

mantenidos en esta población de alto riesgo, zona central de Chile”, dado que en su granja se mantienen las especies animales de interés para este proyecto.

Objetivos: Esta investigación tiene por objetivos, Determinar la prevalencia de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de shiga-toxina en animales mantenidos en SIT de la zona central de Chile, junto con la caracterización epidemiológica y microbiológica.

Procedimientos: Si Ud. acepta participar de esta experiencia, deberá responder una encuesta, con una duración aproximada de 15 minutos, tiempo en que adicionalmente se colectaran muestras de algunos de sus animales (aves/cerdos/otros animales).

Beneficios: Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento en relación a estos sistemas productivos, su participación en este proyecto involucrará el compromiso de este grupo con la entrega de los resultados de las pruebas diagnósticas realizadas, más un seminario de capacitación en bioseguridad a organizarse con su directiva vecinal.

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

Confidencialidad: Toda la información asociada a su participación, será mantenida en estricta confidencialidad, incluyendo el acceso de los investigadores y colaboradores a información codificada, así como a las agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica referida a los resultados de esta investigación, estará debidamente codificada, resguardando el anonimato de la fuente de información.

Voluntariedad: Su participación en este proyecto de investigación es completamente voluntaria, por lo tanto, se puede retirar o declinar en su participación en cualquier momento, indicándosele al investigador principal.

Derechos: En la medida que Ud. requiera cualquier información adicional sobre su participación en este estudio, puede llamar a: **Raúl A. Alegría Morán**, teléfono **+56 9 98223891**.

Después de haber recibido y comprendido la información asociada al presente proyecto de investigación presente en este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo

mi consentimiento para participar en el proyecto "Rompiendo las brechas de conocimiento en sistemas integrados de traspatio (SIT), como un factor clave en la promoción de la Salud Pública y Animal nacional: Caracterización epidemiológica y microbiológica de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productora de shiga-toxina, en animales mantenidos en esta población de alto riesgo, zona central de Chile".

_____ Nombre del productor	_____ Firma	_____ Fecha
-------------------------------	----------------	----------------

_____ Nombre del investigador	_____ Firma	_____ Fecha
----------------------------------	----------------	----------------