

Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas
Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“DETERMINACIÓN DE LA *SALMONELLA SPP.* EN AVES
SILVESTRES QUE HABITAN ALREDEDOR DE UNA
GRANJA DE CUYES DE CRIANZA TECNIFICADA EN EL
DISTRITO DE MANCHAY, LIMA”**

Tesis para optar el título profesional de:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

KATHYA CECILIA ESPINOZA RAMIREZ
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

LIMA-PERÚ

2016

Si no estás dispuesto a aprender, nadie puede enseñarte. Si estas determinado a aprender, nadie puede detenerte.

なんくるないさ,がんばって!

A mis queridos padres, hermano y tía por su apoyo incondicional y motivación constante.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, el MV. Siever Morales Cauti por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, sus sugerencias, paciencia y confianza.

A la Blga. Letty Salinas Sánchez y al departamento de ornitología del museo de Historia Natural de UMSM, por el entrenamiento para la captura y reconocimiento de aves.

A mis amigas, Jacqueline Hernández, Molly López, Karen Oviedo, Luzvi Carbajal y Jennifer Castañón, por su apoyo en la recolección de muestras.

A mis queridos padres y tía, por su amor, confianza y apoyo incondicional, en especial a mi madre que me ayudo con la recolección de muestras y por motivarme cada día, los amo mucho. どもありがとう！

A mi querida prima, Jackueline Ríos por ser mi guía, mi ángel y enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para alcanzar el éxito.

INDICE

RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MARCO TEORICO	11
2.1. <i>Salmonella spp.</i>	11
2.1.1. Características biológicas	12
2.1.2. Genética bacteriana	13
2.1.2.1. Plásmidos	14
2.1.2.2. Isla genómica	15
2.1.2.3. Islas de patogenicidad	15
2.1.3. Factores de virulencia	17
2.1.4. Patogenia	19
2.1.5. Epidemiología:	21
2.1.5.1. Transmisión	21
2.1.6. Reservorios	21
2.1.6.1. Aves silvestres	22
2.1.6.2. Epidemiología asociada a aves silvestres de vida libre	23
2.1.6.3. Producción de cuyes en Perú	24
2.1.7. Diagnóstico	25
2.1.8. Prevención y control	26
III. MATERIALES Y MÉTODO	28
3.1. Área de estudio	28
3.2. Materiales:	28
3.3. Métodos	29
3.3.1. Población muestral	29
3.3.2. Método de Captura de Aves	29
3.3.3. Toma de muestra y transporte	30
3.4. Fase Analítica	30
3.4.1. Aislamiento e identificación de <i>Salmonella spp.</i>	30
3.4.2. Identificación bioquímica	31
V. RESULTADOS	32

4.1. Frecuencia de aislamientos de <i>Salmonella spp.</i>	33
4.2. Frecuencia de enterobacterias	34
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. BIBLIOGRAFIA	36

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Porcentaje de aves silvestres capturadas para el estudio divididas por especie (n=185).

Cuadro 2. Distribución porcentual de aislamiento de enterobacterias usando el método de enriquecimiento temprano y tardío.

Cuadro 3. Distribución de aislamiento de enterobacterias en diferentes especies de aves silvestres de vida libre (n=185).

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de *Salmonella spp.* en aves silvestres que habitan alrededor de una granja de cuyes de crianza tecnificada. Se capturaron 185 aves silvestres de vida libre y se identificaron 8 especies diferentes: *Passer domesticus* 63.8%(118/185), *Volatinia jacarina* 16.8%(31/185), *Troglodytes aedon* 2.2%(4/185), *Pyrocephalus rubinus* 1.1%(2/185), *Molothrus bonariensis* 0.5%(1/185), *Crotophaga sulcirostris* 1.1%(2/185), *Columbina cruziana* 12.9%(24/185) y *Forpus coelestis* 1.6% (3/185). Las muestras se tomaron a través de hisopado cloacal, usando protocolos de aislamiento microbiológico establecidos para *Salmonella spp.* y se obtuvo *Salmonella* en 4.32 %(8/185) de aves silvestres, dichos aislados procedieron de 3 diferentes especies representando el 5.08% (6/118) de *Passer domesticus*, 3.22 % (1/31) de *Volatinia jacarina* y 33.3% (1/3) de *forpus coelestis*. Así mismo, se usó 2 métodos de enriquecimiento, representado muestras positivas a *Salmonella spp.* 2.2% (4/185) con el enriquecimiento estándar y 3.8% (7/185) con el enriquecimiento tardío. El método de enriquecimiento tardío incrementa los niveles de aislamiento de cepas de *Salmonella spp.* a partir de muestras orgánicas.

Palabras Claves: *Salmonella spp.*, aves silvestres, método tardío

ABSTRAC

The aim of this study was to determine the presence of *Salmonella spp.* in wild birds living around a farm breeding of guinea pigs tech. Eight species were identified from one hundred eighty five free-living wild birds that were captured: *Passer domesticus* 63.8% (118/185), *Volatinia jacarina* 16.8% (31/185) , *Troglodytes aedon* 2.2% (4/185) , *Pyrocephalus rubinus* 1.1% (2/185), *Molothrus bonariensis* 0.55 (1/185), *Crotophaga sulcirostris* 1.1% (2/185), *Columbina cruziana* 12.9% (24/185) and *Forpus coelestis* 1.6% (3/185). Samples were taken through cloacal swabs, using protocols of microbiological isolation established to identify *Salmonella*. *Salmonella* was obtained in 4.3% (8/185) of wild birds and these isolates came from 3 different species representing 5.08% (6/118) of *Passer domesticus*, 3.22% (1/31) of *Volatinia jacarina* and 33.3% (1/3) of *forpus coelestis*. Likewise, two enrichment method were used, represented *Salmonella spp.* positive samples of 2.2% (4/185) from the standard enrichment and 3.8% (7/185) of delayed secondary enrichment. The delayed secondary enrichment method increases the levels of isolation of strain of *Salmonella spp.* from organic samples.

Keywords: *Salmonella spp.*, wild birds, delayed secondary enrichment method

I. INTRODUCCIÓN

La *Salmonella spp.* es un importante patógeno cuya transmisión afecta la salud animal y salud pública a nivel mundial, esta infección se denomina salmonelosis y es producida por *Salmonella enterica* que es ampliamente reconocida y responsable de graves afecciones principalmente gastrointestinales, siendo su principal reservorio el intestino de animales homeotermos y poiquilotermos.

Los animales infectados pueden actuar como vectores y diseminadores intermitentes a través de sus heces por largos periodos de tiempo contaminando agua, alimentos e instalaciones, que actuarán como fuente de contaminación y que al estar en contacto con animales de granja generará problemas en la producción agropecuaria. Esta bacteria se elimina principalmente por las heces y se disemina en el medio ambiente, donde pueden sobrevivir debido a su carácter ubicuo y comportándose como fuente de infección.

La producción agropecuaria al ser una combinación de factores y procesos que interactúan como un todo, genera una ecología favorable para los patógenos, a través de las características de tecnificación, y ubicación geográfica. Estos factores pueden ocasionar desequilibrios ecológicos, debido al crecimiento continuo de las poblaciones y desarrollo de la producción agropecuaria generando una disminución del hábitat,

promoviendo un mayor contacto de animales silvestres y animales domésticos.

Es así, que las aves silvestres de vida libre son importantes dentro de su ecosistema, comportándose como indicadores biológicos del estado del medio ambiente; sin embargo, también pueden ser vectores potenciales de patógenos, influenciados por ciertos factores como la estación del año, tipo de alimentación o patrones de migración. Así mismos una mala práctica de manejo y deficiente nivel de bioseguridad dentro de las granjas va a permitir la contaminación de ambientes y alimentos predisponiendo la aparición de la salmonelosis siendo importante en el sector pecuario.

Por lo que el objetivo de este estudio es determinar la presencia de *Salmonella spp.* en aves silvestres que habitan alrededor de una granja de cuyes de crianza tecnificada en el distrito de Manchay, Lima.

II. MARCO TEORICO

2.1. *Salmonella spp.*

La *Salmonella spp.* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, tiene aproximadamente 2500 serotipos que han sido identificados y son variantes de 2 especies *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (Figueroa y Verdugo, 2005; Grimont y Weill, 2007). La mayoría de serotipos de *Salmonella spp.* tienen importancia en salud pública y salud animal en el mundo, producen la enfermedad llamada salmonelosis la cual es reconocida como zoonótica y puede ser transmitida por alimentos (ETA) (Uribe y Suarez, 2006).

A nivel mundial la salmonelosis como ETA tiene una alta morbilidad y mortalidad causando gastroenteritis en humanos por consumo de alimentos contaminados. Durante el 2010 según la EFSA se confirmó 99,020 casos en humanos en Estados unidos siendo el grupo más afectado niños entre 0-14 años con una tasa de letalidad de 0.13% y los serotipos aislados fueron *Salmonella Typhimurium* y *Salmonella Enteritidis* (EFSA, 2012).

En el Perú, se ha observado una mayor incidencia por el consumo de productos avícolas con un manejo deficiente en el faenado. Entre el año 2010 -2012 se reportó 35 brotes por año y el 47% de casos se relacionaban con signos clínicos agudos de salmonelosis (MINSA, 2012). En animales domésticos los más

susceptibles son los jóvenes y gestantes, se manifiesta como una enfermedad entérica con diarrea sanguinolenta y acuosa, acompañada de fiebre. Se puede observar otros signos clínicos como septicemia aguda, aborto, necrosis de extremidades y enfermedades respiratorias (OIE, 2008). Los signos y lesiones no son patognomónicos, sin embargo, animales como aves y cerdos pueden estar infectados y no mostrar signos clínicos por ello son importantes en la diseminación de la enfermedad entre explotaciones, ser causa de intoxicación alimenticia y originar productos contaminados (OIE, 2008).

2.1.1. Características biológicas

La *Salmonella spp.* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, son pequeños de 2-5 μm de longitud por 0.7-1.5 μm de diámetro, no esporulados y son móviles ya que presentan flagelos periféricos a excepción de los serotipos *Gallinarium* y *Pullorum* (Vadillo *et al.*, 2002).

El género *Salmonella* a través de estudios de ADN mediante técnicas de hibridación mostro que está constituida por 2 especies: *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*; Esta última se divide en 6 subespecies: *Salmonella enterica* subesp. *Enterica* (I), *Salmonella enterica* subesp. *Salamae* (II), *Salmonella enterica* subesp. *Arizonae* (IIIa), *Salmonella enterica* subesp. *Diarizonae* (IIIb), *Salmonella enterica* subesp. *Houtenae* (IV) y *Salmonella enterica* subespecie *indica* (VI) (Vadillo *et al.*, 2002; Figueroa y Verdugo, 2005).

La mayoría de serovariedades aisladas del hombre y animales de sangre caliente pertenecen a la subespecie *enterica* y llevan un nombre por lo general relacionado con el lugar geográfico donde se aisló por primera vez. Como las serovariedades no tienen nivel taxonómico de especie sus nombres escapan al dominio del "Código internacional de Nomenclatura Bacteriana" y por ello debe escribir en letra tipo romano no en itálica, de la siguiente manera: *Salmonella enterica subesp, enterica serovar typhimurium* es el nombre completo de *Salmonella typhimurium* (Caffer y Terragno, 2001).

Las serovariedades pertenecientes a las subespecies restantes y a *Salmonella bongori*, de baja incidencia en patología humana o animal, se designan con el nombre de la subespecie, seguido de la fórmula antigénica; por ejemplo: *Salmonella* subesp. IV 50: b: - (*Salmonella enterica* subesp. *Houtenae* 50: b) (Caffer y Terragno, 2001).

De acuerdo a la clasificación también se pueden identificar estos serotipos en base a sus estructuras antigénicas la cual está clasificada por el esquema de Kauffmann-White (Tizard ,2004; Grimont y Weill, 2007). *Salmonella* tiene como estructura antigénica el antígeno somático (O) el cual es un polisacárido, termoestable tipo-especifico que se encuentra en la pared bacteriana y su parte antigénica se encuentra en la capa de lipopolisacaridos (LPS), estos promueven un contacto directo de la bacteria con el ambiente. El antígeno Flagelar (H) es proteico y termolábil, constituido por flagelina cuya composición de aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado (Pachón, 2009; Alves, 2010).

2.1.2. Genética bacteriana

El cromosoma de *Salmonella spp.* tiene un rango de 4.6-4.9 Mb. y para poder desencadenar el proceso patogénico se presenta como mosaico y está compuesto por regiones colineales e intercaladas con islas únicas para cada especie, en la mayoría de los casos las islas codifican funciones de patogenicidad.

Los genes de virulencia contenidos en las islas de patogenicidad están involucrados en la invasión, apoptosis de macrófagos y activación de cascada de fosforilación dependiente de MAP cinasas (Martínez, 2007). Las islas de patogenicidad de *Salmonella spp* (SPIs) son grandes agrupaciones de genes asociados a la virulencia que se encuentran agrupadas dentro de su genoma. Algunos de estos SPI se conservan dentro del género *Salmonella*, mientras que otros son específicos para determinados serotipos (Hensel, 2004). Los genes de virulencia pueden estar presentes en diversas regiones del cromosoma y en elementos génicos móviles, siendo responsables por la codificación de productos

y propiedades que pueden determinar la patogenicidad y consecuentemente la virulencia para *Salmonella spp.*

2.1.2.1. Plásmidos

Los plásmidos son elementos citoplasmáticos que tienen forma circular, contienen ADN bicatenario el cual les permite replicarse de forma independiente. Se caracteriza por su capacidad de poseer genes de virulencia, codificar factores de virulencia y resistencia a antibióticos (Tortora *et al.*, 2012).

Salmonella spp tiene plásmidos portadores de genes de virulencia pero no todos sus serotipos presentan esta estructura. Han sido encontrados en los serotipos *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Dublin, *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Gallinarium y *Salmonella* Pullorum y la *Salmonella* Typhi carece de este plásmido (Saldarriaga y Rugeles, 2001).

Estos plásmidos presentan un tamaño variable dependiendo del serotipo (50 a 100 kb) aunque todos contienen una región de 8kb altamente conservada que contiene el locus *spv* (Plásmido de virulencia de *Salmonella*) el cual es responsable del fenotipo de virulencia y codifica 1 gen regulador *spvR* y 4 genes estructurales: *spv A*, *B*, *C*, *D* (Rodríguez, 1996; Saldarriaga y Rugeles, 2001). Los genes de la *spv* (Plásmidos de virulencia de *Salmonella*) están involucrados en la habilidad de la bacteria de causar infecciones en tejidos extra intestinales tales como los linfonodos mesentéricos, bazo e hígado (Salvagni, 2003). Los 4 genes estructurales mencionados son transcritos como un operón y son activados por el producto del gen *spvR*, el cual es producido en la fase estacionaria del crecimiento probablemente debido a un acúmulo en esta fase de productos metabólicos que le permitirán la sobrevivencia en el interior de los macrófagos (Saldarriaga y Rugeles, 2001; Salvagni, 2003).

2.1.2.2. Isla genómica

La isla genómica de *Salmonella* 1 (SGI1), fue identificada en cepas multirresistentes de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, Paratyphi B y Agona (Fortes *et al.*, 2012). Es un locus de 43 kb y tiene una región llamada multidrogo resistente (MDR) que contiene genes de resistencia a antibióticos compuestas por 2 integrones (Hensel, 2004). El primer integron lleva los genes de *aadA2*, *Sull* (resistencia a estreptomicina y sulfamidas respectivamente). El segundo integron presenta el gen *pseI* o gen cassette (resistencia a ampicilina), el gen *florR* (resistencia a cloranfenicol) y el gen *tetA* (resistencia a tetraciclina) por ello estos genes confieren un fenotipo de penta-resistencia (resistencia a tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina y sulfamidas) (Fluit, 2005; Fortes *et al.*, 2012).

2.1.2.3. Islas de patogenicidad

Salmonella spp. presenta múltiples genes involucrados en la patogénesis, se han identificado 10 islas de patogenicidad siendo la más estudiada la SPI-1, que está presente en *Salmonella bongori* y todas las serovariedades de *Salmonella enterica*, esta codifica genes que ayudan a la invasión y son característica importante para la virulencia de *Salmonella enterica*, también contiene genes que codifican el STTIII (sistema de secreción tipo III) denominados *inv* y *spa*, los cuales están involucrados en la translocación de proteínas efectoras dentro del citoplasma de la célula del hospedero (Figuroa y Verdugo, 2005; Martínez, 2007; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-2, está relacionada con la capacidad de la bacteria de sobrevivir en el interior de los macrófagos y multiplicarse dentro de la vesícula contenedora de salmonella (SVC); tiene un proceso complejo que requiere el desarrollo de varios genes, incluyendo aquellos que ayudan a la sobrevivencia de formas reactivas de oxígeno, bajo pH y defensina, siendo esenciales para proliferar en tejido extra intestinal y causar infecciones sistémicas (Figuroa y Verdugo, 2005; De Oliveira *et al.*, 2013). Esta isla tiene una segunda región que presenta un grupo de genes *ttr* que están implicados en la respuesta anaerobia (reducción de tetratoato),

además de diferentes pautas de lectura abierta ORFs de función desconocida (Figueroa y Verdugo, 2005; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-2 también codifica para un STTIII que se activa cuando la bacteria se encuentra dentro de una vacuola y hay translocación de proteínas efectoras a través de la membrana de las SCVs e interfiere con la fusión de SCV con endosomas y lisosomas, por lo tanto evita la muerte de esta bacteria (De Oliveira *et al.*, 2013). La SPI-2 controla la dinámica de la membrana de las SCVs, el ensamblaje y la formación de extensiones filamentosas de la membrana de las SCVs que parecen asociados con microtúbulos y retrasando la apoptosis de las células infectadas (De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-3 tiene genes *mgtB* y *mgtC*, que son requeridas para la supervivencia intracelular en macrófagos. El gen *mgtB* es responsable del transporte de magnesio (Mg^{+2}) cuando se encuentra en bajas concentraciones y es necesario este sistema para la adaptación a limitaciones nutricionales dentro del fagosoma (Figueroa y Verdugo, 2005; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-4 está presente en varios serovares de *Salmonella enterica* y codifica un supuesto sistema de secreción tipo I (STTI) que secreta toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella spp* al ambiente intracelular en los macrófagos, sin embargo su función principal aún no ha sido determinada (Figueroa y Verdugo, 2005; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-5 se encarga de codificar proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como *SopB* (*SigD*) que además de estimular la secreción de cloro y pérdida de fluidos resultando en diarrea, también se involucrada en el flujo de macrófagos para su secreción utiliza el STTIII de la SPI-1 (Figueroa y Verdugo, 2005; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-6 contiene al operón de la fimbria tipo chaperona –usher *SafA-D* y *tcs A-R* (De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-7 es una de las islas de patogenicidad más grandes que se ha identificado y es específico para los serovares Typhi, Dublin y Paratyphi C. Codifica el antígeno Vi o capsular que es un exopolisacárido capsular, el cual

contiene un gen *viaB*-locus el cual es responsable de la biosíntesis del exopolisacárido que le brinda resistencia a la fagocitosis y el profago SpoE contiene el gen *sopE* el cual codifica las proteínas efectoras del SPI-1, interviniendo en el ruffling y el proceso de internalización de la bacteria (Hensel, 2004; Seth-Smith, 2008; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-8 es un locus de 6,8 kb identificado en la secuencia del genoma del serovar Typhi y se encuentra adyacente al gen *pheV* ARNt y está relacionado a la producción de bacteriocinas que actúan como factor de virulencia, también está presente un gen que codifica una integrasa, indicando movilidad de esta isla, su distribución aún no ha sido investigada a detalle (Fortes *et al.*, 2012; De Oliveira *et al.*, 2013).

La SPI-9 es un locus de 16kb que está adyacente a un bacteriófago en el cromosoma de serovar Typhi, serovar Typhimurium y en secuencias incompletas de otros serovares y *Salmonella bongori* (Sabbagh *et al.*, 2010; Forte *et al.* 2012). Tiene una organización similar a la SPI-4 y sus factores de virulencia putativos van a codificar 3 genes homólogos que son requeridos para codificar el sistema de secreción tipo I y una gran proteína similar a la RTX (Hensel, 2004; Forte *et al.* 2012).

La SPI-10 tiene una inserción de 32 kb, se encuentra al lado del gen *Leux* ARNt. Este locus es completamente diferente en cada serovar y es denominado SPI-10 solo para *Salmonella Typhi* (Sabbagh *et al.*, 2010). Los factores de virulencia codificados son el operón de la fimbria *Sef* que está restringida a serovares como *S. Typhi* y *Enteritidis* siendo considerado como uno de los factores que determina la especificidad de hospedero (Hensel, 2004; De Oliveira *et al.*, 2013).

2.1.3. Factores de virulencia

Salmonella spp. tiene factores de virulencia que son estructuras necesarias con capacidad de facilitar la infección en el hospedero y poder causar enfermedad (De Oliveira *et al.*, 2013). Presentan factores que contribuyen a la invasividad, endotoxinas, citotoxinas y enterotoxinas, estas estructuras pueden ser superficiales que actúan como dianas del sistema inmune del hospedador; La

membrana externa de las bacterias presentan lipopolisacáridos (LPS) las cuales tienen una actividad tóxica por acción de lípido A actuando así como endotoxinas que pueden provocar síntomas gastrointestinales como cólicos y diarrea (Martínez, 2007).

Salmonella presenta flagelos que se encargan de dirigir a la bacteria hacia el epitelio intestinal mediante quimiotaxis, permitiendo atravesar la espesa capa de mucina y así contribuir con el proceso de inflamación. *Salmonella spp.* tiene una cápsula que está directamente relacionada con la capacidad invasiva del serotipo Typhi. Se ha descrito que las citotoxinas están asociadas con la superficie celular, inhiben la síntesis proteica en la célula del hospedador (Martínez, 2007).

Presenta fimbrias que son estructuras superficiales que cumplen funciones de adhesinas dándole la capacidad de adherirse a cualquier tipo de célula y así generar una interacción bacteria-hospedero para que pueda expresar su patogenicidad, persistencia ambiental y formación de biofilm (Darwin y Miller, 1999; Figueroa y , 2005).

En el caso de *Salmonella spp.* presenta varios tipos de fimbrias, estas incluyen las fimbrias tipo I (*fim*), fimbria codificada por plásmidos (*pef*), fimbria polar larga (*lpf*) y fimbria agregativa delgada (*curli*) (Darwin y Miller, 1999). Para esta bacteria fueron identificados 20 operones fimbriales los cuales tienen tropismo específico por algún tipo celular o células de una especie animal en particular (Darwin y Miller, 1999; De Oliveira *et al*, 2013).

La fimbria tipo I (*fim*) es codificada por el operón *fimAICDHF*, es morfológicamente similar pero antigénicamente distinta a la fimbria tipo I de la *Escherichia coli*. Así mismo estas fimbrias tipo I se unen específicamente con receptores de manosa en diversas células, la mayor subunidad es *FimA* (21kDa) y otras proteínas asociadas incluyendo la adhesina *FimH*, esta adhesina media la unión a las células epiteliales y también ayuda a inducir el consumo dependiente de actina en ausencia de T3SS-1 en murefina o célula HeLa (Darwin y Miller, 1999; Velge *et al.*, 2012).

La fimbria polar larga (*lpf*) es codificada por el operón *fimABCDE* siendo la más larga y polarmente localizada en la célula bacteriana. Se encuentra en algunos serovares de *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* y se cree que esta fimbria permite el tropismo a las placas de peyer. Otra función que le otorga el gen *lpfA* es de intervenir en la reacción cruzada entre los serotipos de *Salmonella spp.* (Darwin y Miller , 1999; Norris y Baumler, 1999).

La fimbria delgada agregativa (*Tafi*) o SEF17 es codificada por el operón *agf* y es esencial para la formación de la matriz extracelular, formación de biofilm, resistencia ambiental, adherencia a células eucariotas (Darwin y Miller, 1999; Gibson *et al.*, 2007). El operón *agf* BAC y *agf*DEFG ambos son requeridos para la biosíntesis y ensamblaje (Gibson *et al.*, 2007).

La fimbria codificada por plásmidos (*pef*) está presente en *Salmonella* Typhimurium, es importante porque causa una infección sistémica después de una inoculación vía oral, presenta varios *loci* de virulencia que han sido clonados e identificados de plásmidos de virulencia incluyendo la *spv* (plásmido de virulencia de salmonella) y gen *rck*, permitiendo la unión de la bacteria a las microvellosidades de los enterocitos (Darwin y Miller, 1999).

2.1.4. Patogenia

Salmonella spp. al ingresar al organismo del hospedero a nivel del estómago va sufrir severos cambios ambientales especialmente pH ácido, aumento de temperatura, baja tensión de oxígeno y alta osmolaridad el cual va a resistir y responder modulando la expresión de sus genes para luego poder colonizar el intestino delgado (Sánchez y Cardona, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005).

En el intestino delgado se va a dar la adhesión a las células epiteliales del íleon y membrana apical de las células M usando sus adhesinas como cápsula, flagelos y fimbrias. Cuando las adhesinas reconocen estas células y entran en contacto se va a generar una señal inductora que activa el sistema de secreción tipo III el cual es codificado por la isla de patogenicidad SPI-1 permitiendo así el proceso de

translocación de las proteínas efectoras dentro del citoplasma de estas células (Sánchez y Cardona, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005; Lhocine *et al.*, 2015).

Una vez adherida la *Salmonella spp.* a la célula hospedera se genera una respuesta de contacto permitiendo la invasión por un mecanismo llamado trigger (disparo) que consiste en que la bacteria inyecta las proteínas efectoras las cuales inducirán rearrreglos en el citoesqueleto generando la formación de ruffling (ondulamiento de la membrana) en la superficie por acción de las proteínas SpoE/SpoE2 que activan la Rho-Gtpasa como la Rac y cdc42 que inician la polimerización de actina y ramifican filamentos de actina que contribuyen a la formación de vesícula contenedora de Salmonella (Sánchez y Cardona, 2003; Figueroa y Verdugo., 2005; Lhocine *et al.*, 2015).

La proteína SptP está implicada en la fosforilación de los residuos de tirosina de receptores ubicados al nivel de la membrana de la célula produciendo una disrupción del citoesqueleto y ruffling (Sánchez y Cardona, 2003, Figueroa *et al.*, 2005; Lhocine *et al.*, 2015). Una vez que se detiene el ruffling la bacteria queda englobada e incorporada dentro de la célula y el borde en cepillo vuelve a su normalidad por despolimerización de la actina y la formación de una vesícula contenedora de salmonella (SVC) que se dirige hacia la membrana basal de la célula epitelial eludiendo la unión con lisosomas (Figueroa y Verdugo, 2005).

Así mismo una vez dentro se encuentra con la presencia de macrófagos los cuales inducen una macropinocitosis, para poder sobrevivir dentro la salmonella remodela el fagosoma evitando la transición de lisosomas y creando un nicho intracelular que le permite una eficiente replicación, que es caracterizada por tener concentraciones limitadas de Mg^{2+} y Fe^{2+} y un pH ácido, la acidificación dentro del fagosoma es necesaria para la supervivencia y replicación intracelular (Figueroa *et al.*, 2005). Estos macrófagos tienen la capacidad de migrar hacia otros órganos del sistema retículo endotelial, facilitando la diseminación de *Salmonella spp.* dentro del hospedero (Sánchez y Cardona, 2003, Figueroa y Verdugo, 2005).

2.1.5. Epidemiología:

2.1.5.1. Transmisión

Salmonella spp. se transmite por diversas vías siendo la principal, la vía fecal – oral, esto se debe a que tiene un carácter ubicuo, una capacidad de supervivencia en el medio externo y la facultad de poder infectar animales (Vadillo *et al.*, 2002). Los animales infectados pueden actuar como vectores y diseminadores intermitentes a través de sus heces por largos periodos de tiempo contaminando agua, alimentos e instalaciones, funcionando como un depósito para el agente patógeno que estará en contacto con animales de granja y humanos (Gopinath *et al.*, 2012). También se ha reportado en aves silvestres como *Passer domesticus* que algunos enteropatógenos como la *Salmonella spp.* se pueden transmitir por vía cloacal teniendo en cuenta que la cloaca aviar tiene dos funciones la de excreción y la de transferencia de gametos. Así mismo en machos la protuberancia cloacal a la hora de la copulación puede transferir estas bacterias a la hembra (Stewart y Birch, 2000; Clare *et al.*, 2009; White *et al.*, 2010; Van Dongen *et al.*, 2013).

Las infecciones por malas prácticas de manejo y deficiente nivel de bioseguridad, como es el caso del control de la presencia de aves silvestres dentro de la granja de cuyes va a permitir la contaminación de ambientes y alimentos, predisponiendo a la aparición de salmonelosis, una importante enfermedad en este sector (Matsuura *et al.*, 2010).

2.1.6. Reservorios

La mayoría de vertebrados como mamíferos, reptiles y aves pueden actuar como reservorios naturales para la *Salmonella spp.*, ya que tienen respuestas diferentes a las infecciones y una función en la epidemiología de algunas bacterias potencialmente patógenas siendo un factor de riesgo en la salud pública y animal (Fisher y Gerhold, 2002).

2.1.6.1. Aves silvestres

Las aves silvestres de vida libre son importantes dentro de su ecosistema, siendo consideradas generalmente como indicadores biológicos de diversos entornos saludables. Sin embargo, desde el punto de vista de salud pública esta visión positiva no siempre es válida, porque pueden ser vectores potenciales de patógenos, influenciados por ciertos factores como la estación del año, tipo de alimentación o patrones de migración (Albureesh *et al.*, 2007; Braconaro, 2012).

El tipo de alimentación en aves silvestres es una clave determinante para la adquisición de enterobacterias. Algunas aves silvestres de comportamiento gregario y de alimentación oportunista tienen una relación de sinantropía debido a que en las granjas encuentran un entorno favorable ya que hay oferta de alimentos y agua (Clare *et al.*, 2009; Andrés *et al.*, 2012). Favoreciendo la dispersión de patógenos infecciosos contaminando fuentes de agua, pastizales, comederos, entre otros a través de las heces de las aves (Clare *et al.*, 2009; Carlson *et al.*, 2015).

La mayoría de patógenos se supone que se transmiten de una manera dependiente de la densidad, de tal manera si aumenta el grado de hacinamiento en estaciones de alimentación también lo hace la probabilidad de transmisión de patógenos entre los hospederos infectados y susceptibles (Clare *et al.*, 2009).

Debido a la falta de interés en aves silvestres de vida libre, que cumplen función de vector de enfermedades, no se toma en cuenta a los individuos asintomáticos con niveles subletales de algún patógeno, aunque los pocos ejemplos bien estudiados se concentran en aves de interés comercial (Clare *et al.*, 2009).

La microbiota intestinal refleja la coevolución de los microorganismos con el hospedero y se cree que juega un rol fundamental en la salud animal, respuesta inmune y presentación de enfermedades (Van Dongen *et al.*, 2013). La identificación de los componentes de la microflora normal del intestino aviar es importante si se quiere comprender las interacciones entre enterobacterias y aves,

las cuales pueden influenciar en la susceptibilidad del hospedero para adquirir patógenos del medio ambiente y pueden ayudar en las dinámicas de transmisión de patógenos aviares (Clare *et al.*, 2009).

En aves del orden Passeriforme hay una susceptibilidad por infección a *Salmonella spp.*, estas aves infectadas pueden o no desarrollar la enfermedad clínica y se puede sospechar de portadores clínicamente sanos jugando un rol importante en la transmisión de este patógeno e infectando a otras aves. En vida libre se ha demostrado que la especie *Passer domesticus* son portadores asintomáticos de *Salmonella Typhimurium* (Tessier *et al.*, 2016).

2.1.6.2. Epidemiología asociada a aves silvestres de vida libre

Los análisis epidemiológicos describen algunos serotipos de *Salmonella spp.* aislados de aves silvestres de vida libre, esto se debe a que están influenciados por ciertos factores como estaciones, tipo de alimentación o patrones de migración, siendo los individuos infectados un objetivo crucial para el control de la enfermedad (Andrés *et al.*, 2012).

Diferentes estudios reportan algunos serotipos identificados de la bacteria en estudio, como Tizard *et al.* (1979) que identificó la presencia de *Salmonella typhimurium* con una frecuencia de 15% (9/60) en *Passer domesticus* en Canadá. Cizek *et al.* (1994) reporta una incidencia de 22.6 % (7/30) de *Salmonella typhimurium* en aves del orden Passeriforme incluyendo la especie *Passer domesticus* cerca de un establo de vacas con incidencia de salmonelosis en terneros y un 0.5 % de este mismo serotipo en aves del orden Columbiformes que habitaban cerca de granjas donde no había animales infectados por *Salmonella spp.* en República Checa.

Refsum *et al.* (2002), reporta la presencia de *Salmonella Typhimurium* y *Salmonella paratyphi B var. Java* con una prevalencia de 4% en aves del orden Passeriformes incluyendo *Passer domesticus* desde 1969 hasta el 2000 en

Noruega. Mirzaie *et al.* (2010) reporta la presencia de *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Montevideo con una prevalencia de 3.8% (18/470) en *Passer domesticus* en Irán.

Vilela *et al.* (2012) reporta *Salmonella enterica sub. Houtenae* con una frecuencia de 0.04% (1/228) en *Passer domesticus* en 8 granjas (4 granjas de pollos de engorde, 3 establos ganaderos y 1 de granja de ponedoras) en Brasil. Botti *et al.* (2013) reportó la presencia de *Salmonella* Typhimurium con una frecuencia de 4.3% (24/101) en aves de orden Passeriformes incluyendo la especie de *Passer domesticus* en Italia.

2.1.6.3. Producción de cuyes en Perú

El cuy o cobayo (*Cavia porcellus*) constituye una fuente proteica esencial en la dieta del poblador andino pero en las últimas décadas se ha convertido en un producto de mayor demanda por el mercado nacional e internacional (Chauca, 1997; Layme, 2011).

La crianza de cuyes en el Perú se ha desarrollado bajo la modalidad de crianza familiar, sin embargo la crianza intensiva (tecnificada) se ha venido incrementado debido a que es un sistema eficiente que usa alta tecnología y también usa cuyes de líneas selectas, precoces, prolíficas y eficientes convertidores de alimentos, pero los conocimientos sobre aspectos sanitarios y epidemiológicos sobre enfermedades aún son escasos (Chauca, 1997; Matsuura *et al.*, 2010).

En el Perú la distribución de la población de cuyes se encuentra en su totalidad del territorio, Según el último censo agropecuario del 2012 la población de cuyes en el país alcanzó la cifra de 12'695,030 cuyes. En el departamento de Lima la población fue de 740,812 y en la zona de estudio en Pachacámac se estimó una población de 56,514 animales (INEI, 2012).

El cuy como cualquier otra especie es susceptible a sufrir enfermedades infecciosas de origen bacteriano, viral y/o parasitario influyendo de manera negativa a través de pérdidas económicas al productor (Chauca, 1997).

A pesar de la capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyes ante una perturbación del manejo ambiental predisponen a una susceptibilidad y resistencia a agentes patógenos (Morales, 2013). Por ello se debe implementar un adecuado programa sanitario que asegure el mantenimiento de la bioseguridad poniendo énfasis en la infraestructura, control de entradas, control de movimientos internos y control de salidas y así evitar malas prácticas de manejo debido a un deficiente nivel de bioseguridad permitiendo la presencia de roedores y aves contaminando los ambientes y alimentos (Matsuura *et al.*, 2010; Morales, 2013). Sin embargo, el riesgo de enfermedad está basado en 3 aspectos fundamentales como número de microorganismos infectantes, factores de virulencia y el sistema inmune del individuo infectado sumado a esto un mal manejo ambiental (Morales, 2013). En este contexto destaca la salmonelosis, enfermedad que ocasiona elevada mortalidad y morbilidad en poblaciones de cuyes.

2.1.7. Diagnóstico

Las técnicas de diagnóstico para *Salmonella spp.* se basan principalmente en el aislamiento bacteriano a través de hisopados rectales y/o cloacales, tejidos de necropsia, frotis de heces, entre otros (OIE, 2008). Para el aislamiento de la *Salmonella spp.* existen diversas técnicas, como usar caldos de enriquecimiento con medios selectivos que favorecen el crecimiento de esta bacteria e inhiben el crecimiento de la flora acompañante, para ello se puede usar diversos caldos como el tetrationato, verde brillante o Rappaport- Vassiliadis. El más recomendado es Rappaport- Vassiliadis, porque tiene una gran eficiencia en la recuperación y selectividad permitiendo la multiplicación de *Salmonella spp.* en presiones osmóticas relativamente elevadas, presenta fosfatos monopotásicos y dipotásicos que mantienen estable el pH del medio, durante el almacenamiento y el cloruro magnésico enriquece el caldo favoreciendo el desarrollo de salmonella, se incuba a 41°C por 24 h (Gonzales *et al.*, 2014).

Generalmente en la industria avícola se realiza un enriquecimiento tardío para beneficiar la recuperación de *Salmonella spp.* que han sido dañadas por antibióticos, requiere un tiempo adicional para la multiplicación en bajos números o si las bacterias que compiten están presentes en la muestra (Feder *et al.*, 1998; Rybolt *et al.*, 2004). El periodo de enriquecimiento tardío es de 5 días a temperatura ambiente y después de este periodo se extrae 1 ml del caldo y se agrega a un tubo con caldo limpio y se deja por 24 horas a una temperatura de 37°C (Mitchell y Shane, 2001; Rybolt *et al.*, 2004).

Luego se aíslan en medios sólidos selectivos para poder diferenciar colonias de *Salmonella spp.* que contienen sustancias inhibitorias, el agar más usado es el XLD el cual se lee como colonias con un centro negro grande o colonias casi completamente negras debido a la producción de sulfhídrido. Los resultados se obtienen después de 24 y 48 horas de cultivo a 37°C y posterior a esto la caracterización de las colonias mediante pruebas bioquímicas (OIE, 2008).

2.1.8. Prevención y control

Los animales de producción de crianza intensiva son más susceptibles a sufrir infecciones y pueden transmitirla a personas a través de sus subproductos, es por ello que se deben implementar medidas de bioseguridad para poder prevenir y proteger la salud de los animales y humanos poniendo énfasis en la infraestructura, control de entradas, control de salidas del personal, control de movimientos internos, manejo adecuado de los alimentos y presencia de roedores o aves silvestres dentro del galpón, ya que si hay perturbación del manejo ambiental van a predisponer a una susceptibilidad a agentes patógenos (Matsuura *et al.*, 2010; Morales, 2013).

La vigilancia epidemiológica por parte de las autoridades de salud es necesaria para poder apreciar la magnitud del problema en cada país, conocer el origen de los brotes y adoptar medidas convenientes a fin de reducir los riesgos (Zambrano, 2012; SENASA, 2015). En los animales, el control de salmonelosis consiste en

eliminación de portadores, control bacteriológico, manejo apropiado de galpones, desinfección e higiene de galpones y durante el transporte a los centros de beneficio, ya que la *Salmonella spp.* puede provocar una infección sin manifestación clínica, de duración variable pero importante por su potencial zoonótico (Zambrano, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODO

3.1. Área de estudio

El estudio se desarrolló en la granja comercial de cuyes (S 12°102' 406", W 76°51'24.0048"), situado en el distrito de Pachacámac, departamento de Lima, provincia de Lima, Perú. El procesamiento y análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur.

3.2. Materiales:

Relativo a la captura de aves y muestreo

- Redes de niebla de 12 m x 2.5, drizas, Bolsas de tela, hisopos estériles y Medio de transporte bacteriano Stuart y cooler.

Medios de cultivo

- Caldo enriquecedor Rappaport- Vassiliadis, agar Xilosa Lisina Dexocicolato, y demás medios de cultivo relacionados a las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana.

3.3. Métodos

3.3.1. Población muestral

Para la ejecución de este trabajo fueron capturados aleatoriamente muestra de aves de diferentes especies que pertenecen a los siguientes órdenes: Passeriformes, Cuculiformes, Columbiformes y Psittaciformes, totalizando 185 muestras. Estas aves fueron capturadas en vida libre durante los meses de febrero y marzo del 2015.

3.3.2. Método de Captura de Aves

Se realizó la captura de aves con redes de niebla de 12 m x 2.5 m ubicadas en diferentes puntos de la granja, luego se procedió a la extracción del ave enredada en la red, determinando el lado de la red por donde entro y entre que tensores estaba el ave, luego se realizó la sujeción por inmovilización manual que dependió de que tan enredada estaba el ave, si la red estaba enredada alrededor de la cabeza y el dorso se deslizo los dedos sobre el cuerpo y bajo las alas. Esto normalmente implico tener el pulgar sujetado el pecho y los demás dedos sujetando con cuidado el cuerpo por debajo de las alas (Ralph *et al.*, 1996).

Con el ave firmemente sujeta en la mano izquierda, se liberó una de las alas retirando los hilos que estaban alrededor de la articulación de la muñeca, operando desde la parte inferior del ala. Una vez que un ala estuvo libre se deslizo los dedos sobre ella, sujetándola contra el cuerpo del ave para evitar que aletee. Se retiró los hilos que queden alrededor del cuello, operando desde la nuca hacia delante, de la misma manera que uno se quita una camiseta. Se aseguró que el pico se encuentre sujeto por el pulgar a fin de proteger el cuello del ave cuando se pasa la red por encima de la cabeza y se procedió a liberar la otra ala y finalmente se retiró el ave en dirección opuesta a la red (Ralph *et al.*, 1996). Luego se procedió a introducir las en bolsas de tela individuales y se transportaron al área donde se tomo la muestra, aquí se sacó el ave, se inmovilizo y se identificó la especie mediante nombre científico de cada ejemplar según lo describe Schulenberg *et al.* (2010), tomando en cuenta la descripción de características generales y mapas de distribución geográfica de cada grupo de especies de aves

que han sido registradas en Perú. Luego se tomó la muestra y se marcó al ave cortando la punta de una de las plumas secundarias y se liberó al animal.

3.3.3. Toma de muestra y transporte

El muestro se realizó a través de un hisopado cloacal. Se usó un hisopo estéril el cual fue rotado ligeramente por 15 segundos aproximadamente con la finalidad de establecer un mayor contacto con la mucosa cloacal. Una vez tomada la muestra el hisopo fue introducido en tubos falcon con medio de transporte bacteriano Stuart (Merck), y transportado en un cooler con gel refrigerante manteniéndolo a una temperatura de 4°C aproximadamente hasta llegar al laboratorio de microbiología de la Universidad Científica Del Sur.

3.4. Fase Analítica

3.4.1. Aislamiento e Identificación de *Salmonella spp.*

Enriquecimiento Selectivo

Se realizó un enriquecimiento temprano para el cual se usó caldo Rappaport-Vassiliadis en donde se inoculó el hisopo y se dejó incubar a 41°C por 24 horas. Posterior a esto se realizó un enriquecimiento tardío y se dejó incubar por 5 días a temperatura ambiente.

Siembra en placas

Se resuspendió los caldos de enriquecimiento Rappaport -Vassiliadis, tomándose una muestra con un ansa en aro para realizar el sembrado por agotamiento en un medio sólido específico como Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y luego se incubo a 37°C por 24 horas.

Luego de la incubación los cultivos se clasificaron en colonias negativas y sospechosas a *Salmonella spp.* considerando que estas colonias presentaban

centro negro debido a la producción de sulfhídrido. Una vez elegida la colonia sospechosa se procedió a realizar la identificación por pruebas bioquímicas.

3.4.2. Identificación bioquímica

Para la identificación bioquímica de las colonias sospechosas se usaron las siguientes pruebas y medios en los que fueron sembrados: Prueba de Catalasa, Prueba de Oxidasa, Triple Azúcar Hierro (TSI), Citrato Simmons, Agar Lisina Hierro (LIA), Sulfuro Indol Motilidad (SIM) y Caldo Urea. Fueron llevadas a incubación a 37°C por 24 horas, siguiendo los procedimientos utilizados en el formato de instrucciones de la técnica de identificación bioquímica bacteriana del Instituto Nacional de Salud (Caffer y Terragno, 2001).

Estas pruebas bioquímicas se utilizaron para confirmar las colonias sospechosas que presentan una morfología compatible o características bioquímicas diferenciales (producción de H₂S), así mismo se podrían identificar algunas subespecies porque presentan características bioquímicas que las diferencian entre sí, sin embargo para saber específicamente la subespecie se tendría que realizar pruebas bioquímicas más específicas y pruebas serológicas.

V. RESULTADOS

En el presente estudio se muestrearon 185 aves silvestres de vida libre de forma aleatoria usando redes de niebla y se capturó aves de 8 diferentes especies (Cuadro 1.)

Cuadro 1. Porcentaje de aves silvestres capturadas para el estudio divididas por especie (n=185).

Orden	Especie	Espécimen (n)	Porcentaje (%)
Passeriforme	<i>Passer domesticus</i>	118	63.8
	<i>Volatinia jacarina</i>	31	16.8
	<i>Troglodytes aedon</i>	4	2.2
	<i>Pyrocephalus rubinus</i>	2	1.1
	<i>Molothrus bonariensis</i>	1	0.5
Cuculiforme	<i>Crotophaga sulcirostris</i>	2	1.1
Columbiforme	<i>Columbina Cruziana</i>	24	12.9
Psittaciforme	<i>Forpus coelestis</i>	3	1.6
TOTAL		185	100.00

4.1. Frecuencia de aislamientos de *Salmonella* spp.

Se aisló 4.3% (8/185) cepas positivas a *Salmonella* spp. de un total de 185 muestras; Donde se aisló la bacteria en estudio 5.08% (6/118) de *Passer domesticus*, 3.22 % (1/31) de *Volatinia jacarina* y 33.3% (1/3) de *forpus coelestis*; en las demás especies en estudio no se aisló *Salmonella* spp.

4.2. Frecuencia de enterobacterias

Si bien la identificación de enterobacterias diferentes a *Salmonella spp.* no es un objetivo propuesto para este trabajo, el tipo de enriquecimiento utilizado (Rappaport- Vassiliadis) y el agar (XLD) permitió la identificación de otros géneros presentes en las muestras trabajadas, tal como se puede observar en el **Cuadro 2 y 3**.

Cuadro 2. Distribución porcentual de aislamiento de enterobacterias usando el método de enriquecimiento temprano y tardío.

	Enriquecimiento Temprano			Enriquecimiento tardío		
	n	%	IC 95%	N	%	IC 95%
<i>Salmonella spp</i>	(4/185)	2.2	0.02	(7/185)	3.8	0.03
<i>Citrobacter freundii</i>	(12/185)	6.5	0.04	(15/185)	8.1	0.04
<i>Morganella morganii</i>	(5/185)	2.7	0.02	(16/185)	8.7	0.04
<i>Edwardsiella tarda</i>	(1/185)	0.5	0.01	(4/185)	2.2	0.02
<i>Proteus mirabilis</i>	(0/185)	0	0.0	(1/185)	0.5	0.01
<i>Proteus vulgaris</i>	(0/185)	0	0.0	(11/185)	5.9	0.03

Cuadro 3. Distribución de aislamiento de enterobacterias en diferentes especies de aves silvestres de vida libre (n=185).

	<i>Passer domesticus</i>		<i>Volatinia jacarina</i>		<i>Troglodytes aedon</i>		<i>Pyrocephalus rubinus</i>		<i>Molothrus bonariensis</i>		<i>Crotophaga sulcirostris</i>		<i>Columbina Cruziana</i>		<i>Forpus coelestis</i>		Total		
	n	%	n	%	n	%	N	%	N	%	N	%	n	%	N	%	n	N	%
<i>Salmonella spp</i>	(6/118)	5.08	(1/31)	3.22	(0/4)	0	(0/2)	0	(0/1)	0	(0/2)	0	(0/24)	0	(1/3)	33.3	8	185	4.32
<i>Citrobacter freundii</i>	(10/118)	8.5	(0/31)	0	(3/4)	75	(0/2)	0	(0/1)	0	(0/2)	0	(10/24)	41.7	(2/3)	66.7	25	185	13.5
<i>Edwardsiella Tarda</i>	(1/118)	0.9	(2/31)	6.5	(0/4)	0	(0/2)	0	(0/1)	0	(0/2)	0	(2/24)	8.3	(0/3)	0	5	185	2.7
<i>Morganella morganii</i>	(2/118)	1.7	(3/31)	9.7	(0/4)	0	(1/2)	50	(0/1)	0	(1/2)	50	(4/24)	16.7	(2/3)	66.7	13	185	7.03
<i>Proteus mirabilis</i>	(1/118)	0.9	(0/31)	0	(0/4)	0	(0/2)	0	(0/1)	0	(0/2)	0	(0/24)	0	(0/3)	0	1	185	0.5
<i>Proteus vulgaris</i>	(5/118)	4.2	(4/31)	12.9	(0/4)	0	(1/2)	50	(0/1)	0	(0/2)	0	(1/24)	4.2	(0/3)	0	11	185	5.95

V. DISCUSIÓN

El presente estudio, determinó como muestras positivas a *Salmonella spp.* al 4.32 % (8/185) de aves silvestres de vida libre a partir de hisopado cloacal e identificación bioquímica. Dichos aislados proceden de 3 diferentes especies de aves que habitaban alrededor de una granja de cuyes de crianza intensiva, representando el 5.08% (6/118) de *Passer domesticus*, 3.22 % (1/31) de *Volatinia jacarina* y 33.3% (1/3) de *forpus coelestis* (**Cuadro. 3**). Otro estudio, reporto una frecuencia de *Salmonella spp.* al 15% (9/60) de *Passer domesticus* en Canadá (Tizard *et al.* 1979). Cizek *et al.* (1994) aislaron 22.6% (7/30) muestras positivas a *Salmonella spp.* de *Passer domesticus* cerca de un establo de vacas en República Checa. Refsum *et al.* (2002) reportaron la presencia de *Salmonella spp.* en un 4% de *Passer domesticus* a través sus carcasas desde 1969 hasta el 2000 en Noruega. Andrés *et al.* (2012) reportaron la presencia de *Salmonella spp.* al 1% (15/1502) en aves silvestres que habitaban lejos de una granja y muestras positivas en 4.3 % (66/1502) de aves silvestres que habitaban cerca de una granja porcina, a través de electroforesis en gel de campo pulsado y fagotipificación en España. Braconaro (2012) reporto muestras negativas a *Salmonella spp.* (0/253) de Paseriformes incluyendo la especie *Volatinia jacarina*. Vilela *et al.* (2012) reportaron *Salmonella spp.* con una frecuencia de 0.04% (1/228) de *Passer domesticus* ,colectadas en 8 granjas (4 granjas de pollos de engorde, 3 establos

ganaderos y 1 de granja de ponedoras) a partir de aislamiento bacteriano en Brasil. No se ha reportado aislamiento de *Salmonella* spp. en *Forpus coelestis*.

Según los estudios previos mencionados, reportaron una frecuencia de *Salmonella* spp. que oscila entre 0.04 % a más de 20% en aves silvestres, esta variación va a depender de ciertos factores que faciliten la transmisión entre aves ya sea por hacinamiento en estaciones de alimentación, contacto con granjas que tienen una mala bioseguridad y una circulación significativa de *Salmonella* spp., muertes súbitas de aves silvestres o aves en rehabilitación (Skov *et al.* 2008; Clare *et al.* 2009; Andrés *et al.* 2012). Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los estudios mencionados ya que la frecuencia de *Salmonella* spp. esta en el rango estimado y los estudios de Cizek *et al.* (1994), Andrés *et al.* (2012), Vilela *et al.* (2012), fueron llevados a cabo alrededor de granjas de crianza intensiva de porcinos, vacas y pollos; sin embargo, hay una diferencia en el tipo de procesamiento de muestra ya que para el aislamiento bacteriano en la fase de enriquecimiento Tizard *et al.*(1979), Refsum *et al.* (2002) y Braconaro (2012), usaron otros caldos selectivos (tetracionato y selenito) y agar (Mac conkey, Verde brillante, entre otros); por su parte Refsum *et al.* (2002) aislaron *Salmonella* spp. de aves muertas y Andrés *et al.* (2012), usaron técnicas moleculares.

El estudio del rol de aves silvestres de vida libre desde el punto de vista epidemiológico, permite determinar y conocer que especies de aves silvestres pueden ser consideradas como posible factor de riesgo en la diseminación de agentes patógenos ya sean bacterianos, virales o fúngicos ya que las aves silvestres también son susceptibles a muchas enfermedades comunes a los seres humanos y animales domésticos durante todas las etapas de su ciclo de vida, considerándose a algunas especies de aves silvestres como reservorios naturales de algunos patógenos generando una importancia en la aparición de nuevas enfermedades infecciosas en vida silvestre y posible amenaza potencial como zoonosis (Skov *et al.* 2008; Clare *et al.* 2009; Foti *et al.* 2011,). Como el virus de la influenza aviar, Newcastle, *Chlamydomphila pssittaci*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Mycobacterium avium*, *Candida* spp. , *Borrelia burgdorferi*, entre otras; Siendo las

Enterobacterias como *Salmonella spp.* y *Escherichia Coli* (enterotoxica y verotoxica) las más importantes debido a que tiene cepas resistentes a antibióticos y carácter zoonótico (Clare *et al.*, 2009 ; Foti *et al.*, 2011).

La diseminación de estos microorganismo patógenos depende de varios factores bióticos y abióticos que van a afectar la supervivencia de los microorganismos en el ecosistema de la zona geográfica como la relación de sinantropia de algunas aves de comportamiento gregario y alimentación oportunista generando un comensalismo obligatorio como es el caso de *Passer domesticus*, siendo la especie más estudiada debido a su distribución mundial y que ha sido introducida a varios países incluyendo Perú (Koepcke ,1952 ; Marzluff *et al.*, 2001). Por esta razón, la mayoría de aves capturadas en este estudio fue de *Passer domesticus* y parecen estar en mayor riesgo de infección ya que normalmente viven en grupos en los que pueden transmitirse *Salmonella spp.* vía oro fecal teniendo en cuenta que su alimentación principal está constituida por granos e insectos y tienen la característica de construir sus nidos en los rincones y ranuras de los techados de casas y granjas, teniendo la oportunidad de entrar a los galpones contaminando los suministros de agua y alimentos si no se tiene un adecuado control de vectores (Koepcke,1952; Mirzaie *et al.*, 2010). Por otro lado Stewart y Birch (2000), reportaron en esta especie la transmisión por vía cloacal de algunos enteropatógenos incluyendo *Salmonella spp.* ya que la cloaca aviar tiene dos funciones tanto de excreción y transferencia de gametos.

La migración de aves también puede influenciar en la diseminación de algunos patógenos al llegar a sitios donde encuentra alimentos y se reproducen, aumentando el grado de hacinamiento y así la probabilidad de transmisión de patógenos entre hospederos infectados y susceptibles (Clare *et al.*, 2009).

Otros estudios como el de Skov *et al.* (2008) reportaron que las aves no migratorias es decir sedentarias o residentes como *Passer domesticus* pueden presentar una alta frecuencia de muestras positivas a *Salmonella spp.* al igual que una ave migratoria de largas distancias. Esta similitud es posible ya que esta especie es residente todo el año debido a que depende de los recursos que le

ofrecen las actividades humanas, y en relación al presente estudio, todos los recursos que las granjas le brindan como alimento permanente. Así mismo las especies *Volatinia jacarina*, *Troglodytes aedon*, *Molothrus bonariensis*, *Crotophaga sulcirostris*, *Columbina cruziana* y *Pyrocephalus rubinus* también son especies residentes durante todo el año a lo largo de toda la costa peruana (Schulenberg *et al.*, 2010; Birdlife Data base, 2016). En cambio *Forpus coelestis* es residente en el noroeste y parte media del valle del marañón del Perú (Schulenberg *et al.*, 2010), sin embargo en lima también se puede encontrar poblaciones silvestres de *Forpus coelestis* considerándose una especie introducida debido al tráfico ilegal, el cual al ser extraído y movilizado para su comercialización transporta consigo todos los componentes de su microflora que pueden ser consideradas como potenciales patógenos introduciéndolas en nuevas áreas geográficas y en otras poblaciones.

El aislamiento de *Salmonella spp.* se da principalmente por técnicas microbiológicas, el cual consiste en el uso de un preenriquecimiento y medios selectivos; sin embargo, en este estudio no se realizó el preenriquecimiento ya que favorecería el sobrecrecimiento de la flora acompañante e inhibiría el crecimiento de *Salmonella spp.* Por ello para este estudio se optó por usar un caldo de enriquecimiento selectivo (Rappaport-Vassiliadis), y se usó la técnica de un enriquecimiento estándar y otro tardío, buscando beneficiar e incrementar la tasa de recuperación de esta bacteria ya que en aves silvestres el aislamiento de *Salmonella spp.* es baja (Nierfeld *et al.*, 1998; Rybolt *et al.*, 2004; OIE, 2008).

Se obtuvo por enriquecimiento estándar 2.2% (4/185) de muestras positivas a *Salmonella spp.* y un 3.8% (7/185) muestras positivas mediante el enriquecimiento tardío (**Cuadro 2**). Esta técnica de enriquecimiento tardío generalmente se usa en granjas avícolas, según lo descrito por Waltman *et al.* (1991) usaron el enriquecimiento tardío y aislaron *Salmonella spp.* en un 64% en aves de corral. Nierfeld *et al.* (1998) compararon que el enriquecimiento tardío con caldo rappaport –Vassiliadis era superior a los otros caldos de enriquecimiento selectivos para *Salmonella* a partir de hisopados rectales en cerdos y se obtuvo un

7.5% (42/560) de muestras positivas con el método estándar de 24 horas y un 18.6% (104/560) de muestras positivas con el enriquecimiento tardío después de 5 días.

Así mismo, este método de enriquecimiento tardío ha sido usado para el aislamiento de *Salmonella* en animales silvestres como aves de vida libre. Khidhir y Aref (2010) a partir de hisopados cloacales en aves silvestres obtuvieron 1.4% (2/136) muestras positivas a *Salmonella spp.* con enriquecimiento tardío después de 5 días y en reptiles, Meza (2015) muestreo tortugas *Trachemys sp.* y obtuvo 5.9% (4/67) de muestras positivas a *Salmonella spp.*, de las cuales dos cepas adicionales fueron aisladas con el enriquecimiento tardío. De esta manera podemos afirmar que este método de enriquecimiento tardío es muy útil para el aislamiento de esta bacteria permitiéndonos una mejor recuperación y multiplicación de cepas de *Salmonella spp.*, y así nos ayuda a tener una vigilancia epidemiológica adecuada de las infecciones de este patógeno.

Por otro lado, también se identificó enterobacterias diferentes a *Salmonella spp.*, ya que el tipo de enriquecimiento (Rappaport- Vassiliadis) y el agar (XLD) permitió el aislamiento de otros géneros presentes en las muestras trabajadas como: *Citrobacter freundii* 13.5%(25/185), *Morganella morganii* 7.03 %(13/185), *Edwarsiella tarda* 2.7% (5/185), *Proteus miriabilis* 0.5%(1/185) y *Proteus vulgaris* 5.9%(11/185) (**Cuadro 3.**). Según, Caffer y Terragno (2001), mencionan que algunas cepas de *Salmonella spp.* se pueden confundir con otras enterobacterias como *Citrobacter freundii*, *Proteus miriabilis*, *Proteus vulgaris*, *Edwarsiella tarda* y *Morganella morganii*, debido a que también son enterobacterias con características bioquímicas similares tales como producir sulfhídrido y también se pueden encontrar en la flora bacteriana normal considerándose como patógenos oportunistas. Por este motivo están incluidas como diagnósticos diferenciales, ya que al sembrarlas en el agar XLD (Xilosa-lisina-Desoxilato) van a crecer como colonias sospechosas de color negro.

Finalmente, la prevalencia de *Salmonella* en aves silvestres de vida libre varía entre los diferentes estudios y no es posible determinar si la variación es el

resultado de diferentes métodos de muestro y diseño de estudio aplicativo o si refleja una diferencia significativa en la prevalencia de la enfermedad entre diferentes países.

VI. CONCLUSIONES

- Se aisló muestras positivas a *Salmonella spp.* en un 5.4 % mediante hisopado cloacal en 3 diferentes especies de aves silvestres de vida libre, representando el 4.32% (8/185) de *Passer domesticus*, 3.22 % (1/31) de *Volatinia jacarina* y 33.3% (1/3) de *Forpus coelestis*.
- El enriquecimiento tardío aumenta los niveles de aislamiento de cepas de *Salmonella spp.* a partir de muestras clínicas.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar muestreos periódicos de las aves silvestres y animales de producción (cuyes) para una mejor evaluación de la prevalencia y permanencia de *Salmonella spp.*
- Mejorar los niveles de bioseguridad, a nivel de infraestructura poniendo mallas que impidan el ingreso de aves silvestres al galpón y controlar el ingreso y salida del personal.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Abulreesh H, Raymond G y Graham S. Wild birds and human pathogens in the context of ringing and migration. BTO (looking out for birds). 2007. 23: 193-200.
- Aguilar G, Bustamante J, Bazán V, Falcón N. Diagnóstico situacional de la crianza de cuyes en una zona de Cajamarca. Rev. Inv. Vet Perú, 2011. 22(1):9-14.
- Alves V. Pesquisa de Salmonella spp. em lotes de galinhas de postura comercial vacinadas e não vacinadas contra Salmonella enteritidis. [Tesis Pos grado]. São Paulo: Facultad de ciências agrárias y veterinárias, Universidade Estadual Paulista “ Julio De Mesquita Filho”. 2010.
- Andrés S, Vico J, Garrido V, Grilló M, Samper S, Gain P, Herrera-León S, Mainar R. Epidemiology of subclinical Salmonellosis in wild birds from an area of high prevalence of pig salmonellosis: Phenotypic and genetic profiles of *Salmonella* isolates. Zoonoses and public health. 2012; 60(5):355-65.
- Braconaro P, Caracterização das microbiotas bacteriana e fúngica presentes em cloacas de passeriformes silvestres confiscados do tráfico que serão

- submetidos a programas de soltura [Tesis pos grado]Brasil: Universidade de São Paulo da facultade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2012.
- Bergthorsson U, Ochman H. heterogeneity of genome sizes among natural isolates of *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 1995. 177(20):5784-9.
- Birdlife Data Zone [Internet]. Birdlife.org. 2016 [cited 6 March 2016]. Available from: <http://www.birdlife.org/datazone/species/search>
- Botti V, Navillod F, Domenis L, Orusa R, Pepe E, Robetto S, Guidetti C. *Salmonella* spp. And antibiotic-resistant strains in wild mammals and birds in north-western Italy from 2002 to 2010.*Rev. Veterinaria Italiana*,2013. 49(2): 195-202.
- Caffer M y Terragno R. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", 2001.
- Chauca de Zaldívar, L. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*).FAO. Instituto Nacional de Investigación Agraria,1997.
- Carlson J, Hyatt D, Bentler K, Mangan A, Russell M, Piaggio A, Linz G. Molecular characterization of *Salmonella enterica* isolates associated with starling – livestock interactions. *Veterinary microbiology*, 2015.179 (2):109-18.
- Cizek A, Literák I, Hejlíček K, Tremil F , Smola J. *Salmonella* contamination of the environment and its incidence in wild birds. *Journal of veterinary medicine*, 1994.41, 320-27.
- Clare Mc, Benskin H, Wilson K, Jones K, Hartley. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. *Bio Rev*, 2009.84:349-373.
- Darwin K, Miller V, Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clinical microbiology*, 1999. 12(3):405-28.

- De Oliverira M. Pesquisa de fatores associados á virulência de Salmonella Hadar através da reação em cadeia da polimerase (PCR) [tesis post grado]Porto Alegre: Facultad de Medicina Veterinária, Universidade federal Do Rio Grande Do Sul, 2010.
- De Oliveira A, Sola M, Costa J, Menezes N, De Oliveira J. Salmonella enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. Enciclopédia biosfera-centro científico conhecer, 2013. 9(16): 1947-72.
- [EFSA] European Centre for disease prevention and control. EFSA Journal ,2012.10 (3):1-442.
- Feder I, Nietfeld J, Kelly B, Butine M, McNamara P, Chengappa M. Evaluation of enrichment techniques for the isolation of salmonella choleraesuis from swine feces. Journal of microbiological methods, 1998. 33:143-51.
- Figuroa I, Verdugo A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella spp.* Rev. Latinoamérica Microbiol ,2005.47 (1,2):25-42.
- Fischer J, Gerhold R, La fauna silvestre como factor de riesgo para la salud animal y la zoonosis, Conf. OIE , 2002. 281-89
- Fluit A, Towards more virulent and antibiotic-resistant Salmonella .FEMS Immun Med Microbiol, 2005. 43:1-11.
- Fortes T, Fagundes N, Vasconcellos F, Timm C, Silva E. Ilhas de patogenicidade de Salmonella enterica. Ver inst. Adolfo Lutz. São Paulo,2012. 71(2) : 219-27.
- Garai P, Gnanadhas, Chakravortty D. Salmonella enterica serovares typhimurium and Typhi as model organisms.Revelaling paradigm of host-pathogen interactions. Lands bioscience. India, 2012. 3(4): 377-88.
- Gibson D, White A, Rajotte C, Kay W, AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in Salmonella Enteritidis. Microbiology, 2007. 153: 1131-40.

- González J; Pereira N; Soto Z; Hernández E; Villarreal J. Aislamiento microbiológico de *Salmonella spp.* y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*, 2014. 30 (1): 73-94.
- Gopinath S, Carden S, Monak D. Shedding light on Salmonella Carriers. *Rev Trends in microbiology*. 2012. 20(7):320-27.
- Grimont P, Weill F. Antigenic formulae of the Salmonella serovars. World health organization. 9th edition, 2007.
- Hensel M, Evolution of pathogenicity islands of Salmonella enterica. *International journal of medical microbiology*, 2004. 294:95-102.
- [INEI] Instituto nacional de estadística e informativa. IV Censo agropecuario 2012 Cuadros Estadísticos [Internet] [citado el 20 nov. 2015] Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
- Khidhir Z, Aref E. Isolation of salmonella from some species of wild birds in Sulaimania. *AL-Musyansiriyaj.Sci*. 2010. 21(4): 49-52.
- Koepcke M, El gorrión europeo en el Perú. *Mar del sur*, 1952. 22 (8):63:72
- Layme A, Perales R, Chavera A, Gavidia C, Calle S. Lesiones anatomopatológicas en cuyes (*Cavia porcellus*) con diagnóstico bacteriológico de *Salmonella spp.* *Rev. Inv. Perú*, 2011. 22(4): 369-76
- Lhocine N, Arena E, Bomme P, Ubelmann F, Prévost M, Robine S, Sansonetti P. Apical invasion of intestinal epithelial cells by *Salmonella typhimurium* requires villin to remodel the brush border actin cytoskeleton. *Rev. Cell host & microbe*, 2015. 17: 164-77.
- Martínez N, Virulencia, resistencia y elementos genéticos móviles en serotipos prevalentes de *Salmonella enterica*. [tesis doctorado] España : Facultad de Biología, Universidad de Oviedo, 2007.

- Marzluff J, Bowman R, Donnelly R. Avian ecology and conservation in an urbanizing world. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2001.
- Matsuura A, Morales S, Calle S, Ara M. Susceptibilidad a antibacterianos in vitro de salmonella enterica aislada de cuyes de crianza familiar-comercial en la provincia de Carhuaz, Áncash. Rev Vet Perú, 2010. 21(1):93-9.
- Meza D, Identificación, serotipificación y determinación del perfil de sensibilidad de Salmonella spp. aisladas de cloacas de tortugas de orejas rojas (Trachemys sp.) en cautiverio [Tesis pregrado] Perú: Facultad Medicina Veterinaria de la universidad Científica del Sur, 2015.
- [MINSA] Enfermedades transmitidas por alimentos una importante causa de morbilidad en nuestro país, Bol. Epidemiol, 2012. 21(50).
- Mirzaie S, Hassanzadeh M, Ashrafi I. Identification and characterization of Salmonella isolates from captured house sparrow. Turk.J.vet anim.Sci.; 2010. 34(2):181:86.
- Mitchell M, Shane S. Salmonella in Reptiles. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine 2001; 10 (1): 25 – 35.
- Morales S, La sanidad en sistemas de crianza comercial de cuyes. XXXVI Reunión científica anual de la asociación peruana de producción animal, 2013.
- Nietfeld J, Kelly B, Dritz S, Feder I, Galland J. Comparison of Conventional and Delayed Secondary Enrichment for Isolation of Salmonella Spp. from Swine Samples. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 1998; 10(3):285-87.
- Norris T, Baumler A. Phase variation of the Ipf operon is a mechanism to evade cross-immunity between Salmonella serotypes. Proc Natl Acad Sci, 1999. 96(23): 13393-8.
- [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal .Manual de la OIE sobre animales terrestres: Salmonelosis. 2008.

- Pachón D, Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género salmonella en una población de *Crocodylus intermedius* y *testudinos* mantenidos en cautiverio en la estación biológica tropical Roberto franco E.B.T.R.B de la facultad de ciencias-universidad nacional de Colombia en Villavicencio.[Tesis pregrado]Colombia: Facultad de ciencias básicas, Pontificia Universidad Javeriana, 2009
- Ralph J, Geupel G, Pyle P, Tomas M, De sante D, Borja M. Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres. Pacific Southwest Research Station, Forest Service, 1996.
- Refsum T, Handeland K, Lau D,Holstad G, Kapperud G. Salmonellae in avian wildlife in Norway from 1969- 2000. Appl. Environmental microbiology, 2002. 68(11):5595-99.
- Rodríguez J, Mapa génico del plásmido de virulencia de Salmonella enteritidis y caracterización de regiones homologas del cromosoma de salmonella Typhi [tesis doctorado] Madrid : Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense ,1996.
- Rogers K, Prevalence of pathogenic enteric bacteria in wild birds associated with agriculture in Humboldt County in California [Tesis Master] California: The Faculty of Humboldt State University, 2006.
- Rybolt M, Wills R, Byrd J, Doler T, Bailey R. Comparison of four Salmonella isolation techniques in four different inoculated matrices. Poultry science association,2004. 83: 1112-16.
- Sabbagh S, Forest C, Lepage C,Leclerc J, Daigle F. So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of Salmonella enterica serovars typhimurium and typhi. FEMS Microbiol let, 2010. 1-13.
- Saldarriaga O y Rugeles M.Genes y plásmidos de la Salmonella spp. asociados con la virulencia.Rev Col Cienc Pec. ,2001. 14(1): 1-9.

- Salvagni K, Detecção de genes de virulência em diferentes fagotipos e ribotipos de *Salmonella* Enteritidis utilizados a reação em cadeia da polimerase (PCR) [tesis de Maestría] Brasil: Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad de São Paulo, 2003.
- Sánchez M, Cardona N. Mecanismos de interacción de la mucosa de *Salmonella* con la mucosa intestinal. *Rev. Infectio*, 2003.7 (1):22-9.
- Schulenberg T, Stotz D, Lane D, O'Neill J, Parker T. *Aves del Perú* .1 era edición, Perú, 2010.
- [SENASA] servicio nacional de sanidad agropecuaria. Vigilancia epidemiológica [Internet]. [Citado 4 Marzo 2016]. Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/senasa/vigilancia-pasiva/>
- Seth-smith H. SPI-7: *Salmonella*'s Vi-encoding pathogenic island. *J infect developing countries*, 2008. 2(4):267-71.
- Skov M, Madsen J, Rahbek C, Lodal J, Jespersen J, Jørgensen J et al. Transmission of *Salmonella* between wildlife and meat-production animals in Denmark. *Journal of Applied Microbiology*. 2008;105(5):1558-1568.
- Stewart R, Birch T, Cloacal microbes in house sparrow. *The cooper ornithological society*, 2000. 102(3):679-684.
- Tessier C, Parama L, Lagadec E, Le Minter G, Denis M, Cardinale E, Wild fauna as a carrier of *Salmonella* in Reunion island: Impact on pig farms. *Act Tropical*. 2016; 158:6-12.
- Tizard I, Fish N, Harmeson J, Free flying Sparrows as carriers of Salmonellosis. *Rev. Can.*, 1979. 20: 143-144.
- Tizard I, Salmonellosis in wild birds, *Seminars in avian and exotic pet medicine*, 2004. 13(2):50-66.
- Tortora G, Funke B, *Case Microbiologia*. 10ª Edición. Artmet. Brasil, 2012.

- Uribe C, Suarez MC. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión de alimentos de origen aviar. Colombia médica, 2006. 37(2):151-158.
- Vadillo S, Piriz S, Mateos E. Manual de microbiología veterinaria. Mc Graw Hill-Interamericana. España; 2002.
- Van Dongen,W,White J,Brandl H,Moodley Y, Merklng T,Leclaire S,Blachard P, Danchin E, Hatch S, Wagner R. Age-related differences in the cloacal microbiota of wild birds species. BMC ecology,2013. 13:11.
- Vasquez M, Pebe E, Rodríguez J, Lira B, Falcon N, Zanuzzi N, Barbeito C. Paneth cell identification in the small intestine of guinea pig offspring's (*Cavia porcellus*). Rev. The anatomical record Perú, 2014. 297(5) : 856–63.
- Velge P, Widemann A,Rosseli M, Abed N, Bourmart Z, Chaussé A, Grépinet O,Namdari F, Roche S,Rossignol A, Virlogeux I. Multiplicity of Salmonella entry mechanisms, a new paradigm for Salmonella pathogenesis. Microbiology open, 2012. 1(3):243-58
- Vilela S, Pinheiro J, Silva J,De pace F, Silbeira W, Saukas T,Reis E,Mota Rinaldo. Research of Salmonella spp. And evaluation of pathogenicity, citotoxicity of Escherichia coli isolates proceeding from sparrows (*Passer domesticus*).Pesq. Vet. Brasil, 2012 .32 (9):931-5.
- White J, MirleauP, Danchin E, Mulard H,Hatch S, Heeb P,Wagner R, Sexually transmitted bacteria female cloacal assemblages in a wild bird. Ecology letters, 2010. 13:1515-24.
- Zambrano H. Determinación de Salmonella spp. en centros de beneficio clandestino de aves de Lima Metropolitana [Tesis Pregrado] Perú: Facultad de Medicina veterinaria de la Universidad Nacional Mayor De San Marcos, 2012.