

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

DETECCIÓN Y FACTORES ASOCIADOS A *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia* spp. EN
PERROS DE ISLA DEL REY, REGIÓN DE LOS RÍOS, CHILE

Memoria de Título presentada como parte de
los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO

CAROLINA AURORA CÁRCAMO BAHAMONDE

VALDIVIA – CHILE

2017

PROFESOR PATROCINANTE




Pamela del Pilar Muñoz Alvarado

PROFESORES INFORMANTES



Carla Estrella Rosenfeld Miranda



Rafael Iván Tamayo Castro

FECHA DE APROBACIÓN: 30 de agosto de 2017

ÍNDICE

Capítulos	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5. RESULTADOS.....	12
6. DISCUSIÓN.....	17
7. REFERENCIAS.....	23
8. ANEXOS.....	26

1. RESUMEN

Existen parásitos que afectan el tracto gastrointestinal de los perros, como los nematodos *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncaria stenocephala*, cestodos como *Dypilidium caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Taenia multiceps* y protozoos como *Isospora*, *Cryptosporidium* y *Giardia*. Éstos últimos, son enteropatógenos que afectan tanto a mascotas como a seres humanos y su importancia radica en que representan un peligro para la salud pública.

El objetivo de este trabajo fue obtener información respecto a la frecuencia de presentación de los protozoos *Cryptosporidium* y *Giardia*, focalizado en Isla del Rey, comuna de Corral, región de Los Ríos, durante los meses de abril a junio del año 2016. Se examinaron 89 muestras de heces de perros provenientes de los cuatro sectores residenciales de Isla del Rey. Las muestras se procesaron mediante la técnica Ziehl Neelsen para la detección de ooquistes *Cryptosporidium* y mediante la técnica Telemann para la detección de quiste de *Giardia*, siendo analizadas por microscopía óptica con aumento de 100x y 40x, respectivamente.

De los 89 caninos examinados, se obtuvo una frecuencia de infección de 12,6% de muestras positivas a *Cryptosporidium* y un 13,5% de muestras positivas a *Giardia*. Del total de muestras recolectadas 4,5% presentó biparasitismo. De acuerdo a cada sector en particular se determinó un total de animales positivos, para *Cryptosporidium* y *Giardia*, de un 13% para Lo Venegas, 43,5% para Carbonero, 8,7% para Isla Centro y 34,8% para Las Coloradas.

La frecuencia de presentación de *Cryptosporidium* spp., en relación a la ruralidad, obtuvo en la zona de Las Coloradas un 3,3% de positivos, mientras que los sectores de Lo Venegas, Centro y Carbonero en conjunto presentaron 8,9% de infectados; para *Giardia* se obtuvo un 5,6% para el sector de Las Coloradas, y 7,8% para los demás sectores. En relación a la edad, perros <1 año presentaron 2,2% de infectados con *Cryptosporidium*, mientras que los adultos entregaron 10,1% de positivos, para *Giardia* <1 año presentaron 3,3% de positivos y los adultos 10,1% de infectados. El estatus sanitario concluyó 6,7% de perros positivos a *Cryptosporidium* sin manejos sanitarios, y aquellos con algún manejo sanitario 5,6% de positivos, para *Giardia* 10,1% de infectados no presentó manejos sanitarios, mientras que aquellos con algún manejo sanitario se obtuvo 3,3% de positivos. El grado de confinamiento, registró para *Cryptosporidium* 6,7% de animales positivos que no contaban con confinamiento o que éste fuese temporal, y 5,6% de infectados que disponían de confinamiento permanente. Para *Giardia* 4,4% de infectados no poseían confinamiento o que éste fuese temporal, y 8,9% de positivos era permanente. Con respecto al diagnóstico para *Giardia* se evidenció mediante un muestreo seriado 8,9% (n=7) de animales parasitados en relación al 4,4% (n=5) de detectados mediante un muestro único.

Los valores encontrados para ambos parásitos, indican una fuente de contaminación al medio ambiente que es persistente, implicando un peligro tanto para la población humana, como animal, dado el carácter zoonótico de los protozoos.

Palabras claves: *Cryptosporidium*, *Giardia*, perro, Isla del Rey.

2. SUMMARY

DETECTION OF OOCYST OF *Cryptosporidium* spp. AND CYST OF *Giardia* spp. IN DOGS THE ISLA DEL REY, REGIÓN DE LOS RÍOS, CHILE

There parasites affecting the gastrointestinal tract of dogs, such as nematodes *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncaria stenocephala*, cestodes *Dypilidium caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Taenia multiceps* and protozoa *Isospora*, *Cryptosporidium* and *Giardia*. The latter are enteropathogens that affect both pets and humans and its importance is that pose a danger to public health.

The objectives is to obtain information about the prevalence of protozoan *Cryptosporidium* and *Giardia*, focused in Isla del Rey, Corral, Region de los Rios, during the months of april to june, 2016. Were examined 89 fecal samples of dogs, coming from four residential zones in Isla del Rey. The samples were processed by the Ziehl Neelsen method for detecting *Cryptosporidium* and by Telemann technique for the detection of *Giardia*, and analyzed in an optimal microscope with 40x and 100x magnification, respectively. Of the 89 samples analyzed, was obtain a prevalence of 12.6% of fecal samples positive for *Cryptosporidium* spp. And 13.5% of fecal samples positive for *Giardia* spp. Of the total samples collected, 4.5% presents biparasitism. According to each sector in particular, a total of positive animals were determined for *Cryptosporidium* and *Giardia*, 13% for Lo Venegas, 43.5% for Carbonero, 8.7% for Isla Centro and 34.8% for Las Coloradas.

Frequency of rural cases for *Cryptosporidium* spp., was obtained in Las Coloradas with 3.3% positive cases, while a 8.9% in the areas of Lo Venegas, Centro and Carbonero as a whole 8.9%; for *Giardia*, 5.6% was obtained in Las Coloradas and a 7.8% in other zones. About age, dogs under 1 year old presented a 2.2% of infection with *Cryptosporidium*, while adults were 10.1% of the positive cases; for *Giardia*, dogs under 1 year old presented a 3.3% of positive cases and adults a 10.1% of infected dogs. Sanitary conditions concluded with a 6.7% positives cases for *Cryptosporidium* in dogs without sanitary management, and those who had sanitary management with a 5.6% of positive cases: for *Giardia* a 10.1% of infected did not present sanitary management, while in those with some sanitary management we found a 3.3% of positive cases. Degree of confinement of *Cryptosporidium* showed for animals a 6.7% of positive cases that were not confined or where temporary confined, and a 5.6% were infected into permanent confinement. For *Giardia*, a 4.4% of infected had not confinement or it was temporary, and a 8.9% of positive cases was permanent. Regard the diagnosis of *Giardia*, through a serial sampling an 8.9% (n=7) of animals were recorded parasitized by this protozoan, on the other hand the single sampling report a prevalence of only 4.4% (n=5).

Prevalences for both parasites indicates a persistent source of environment contamination, which implies a danger, both for the human population, and for the animal population, because of zoonotic nature of protozoa.

Keywords: *Cryptosporidium*, *Giardia*, dogs, Isla del Rey.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. ANTECEDENTES GENERALES

El perro (*Canis lupus familiaris*) es el carnívoro doméstico más numeroso del mundo, a su vez es un animal que forma parte importante dentro de las sociedades, lo que tiene como consecuencia un contacto más cercano con los humanos, pudiendo actuar como reservorios, portadores y transmisores de enfermedades (Gracenea y col 2009, Acosta y col 2010).

Desde este punto de vista de la salud pública, los perros no sólo poseen importancia por sus mordidas, accidentes de tráfico o la aversión humana que producen, sino que también debido a la contaminación ambiental de sus heces y/u orina, y a los microorganismos patógenos que pueden transportar (Tortolero y col 2008). Es así como muchas de las zoonosis parasitarias se asocian con perros que viven en estrecho contacto con las personas, ya sea, domésticos o callejeros, reconociéndose su participación en diferentes enfermedades zoonóticas (Gracenea y col 2009, Acosta y col 2010). Aunque las enfermedades parasitarias de tipo zoonóticas generalmente ocurren como infecciones asintomáticas o subclínicas, ninguna es potencialmente mortal para los seres humanos, sin embargo, existen varias de éstas que pueden provocar enfermedades graves, sobre todo en los grupos más vulnerables de la sociedad, es decir, niños, adultos mayores, embarazadas y personas inmunocomprometidas (Gracenea y col 2009, Rodríguez y col 2009).

Dentro de las enfermedades más frecuentes que afectan a los perros se encuentran las infecciones endoparasitarias causadas por protozoos y helmintos, las que pueden ser especialmente graves en animales jóvenes o inmunodeprimidos (Funada y col 2007). En el caso particular de los protozoos zoonóticos que pueden afectar a los caninos, se encuentra *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp., asociados con el genotipo del animal, los que constituyen un alto riesgo para la salud pública (Gracenea y col 2009). Tanto *Cryptosporidium* como *Giardia* se pueden transmitir por vía fecal-oral. Además la contaminación del medio ambiente o del agua potable con los ooquistes y/o quistes puede inducir la aparición de brotes epidémicos (Abeywardena y col 2015).

3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS GÉNERO *Cryptosporidium*

3.2.1. Características morfológicas y especies

Cryptosporidium spp. es un agente protozoario intracelular obligado, monoxeno, que mide entre 4,5 – 5 μm de diámetro, perteneciente al Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoasida, Orden Eucoccidiorida y Familia Cryptosporididae. Todos los miembros del género *Cryptosporidium* son parásitos intracelulares, corresponden a protozoos eucariotas unicelulares, y se definen 16 especies válidas, dentro de las que se reconocen *Cryptosporidium parvum* en bovinos, *Cryptosporidium xiaoi* en ovejas, *Cryptosporidium suis* en cerdos, *Cryptosporidium canis* en perros, *Cryptosporidium felis* en gatos, *Cryptosporidium meleagridis* y *Cryptosporidium baileyi* en aves (Fayer 2008, Bowman 2014).

Morfológicamente, los ooquistes de *C. canis* son similares a los de *C. parvum*, por lo que en un principio se creía que la mayoría de los casos de criptosporidiosis en perros eran ocasionados por

C. parvum (Santín y Troust 2008), pero en el año 2001 se identificó por primera vez como especie a *C. canis* (llamado anteriormente genotipo canino 1). Dentro de las especies que afectan a humanos se encuentran *C. hominis*, *C. parvum*, y *C. canis* asociados principalmente a cuadros diarreicos en personas inmunosuprimidas (Bowman 2014).

3.2.2. Ciclo biológico y signos clínicos

El ooquiste esporulado corresponde al estadio infectante de *Cryptosporidium*, contiene 4 esporozoitos libres, está compuesto por una pared trilaminar, que otorga resistencia a condiciones ambientales adversas. El ciclo se inicia luego de que el hospedero ingiere este ooquiste esporulado, y a nivel intestinal, en la unión de íleon con el ciego, se genera la liberación de los esporozoitos, que son móviles, invadiendo células adyacentes, posteriormente se forma una vacuola parasitófora que contiene a los esporozoitos, este proceso de invasión intracelular extracitoplasmática es llamado esquizogonia o merogonia, y corresponde a la multiplicación asexual del protozoo (Bowman 2007, Fayer 2008). De esta manera el núcleo del trofozoito se divide formando merozoitos, destruyendo la célula hospedera, e invadiendo células vecinas para repetir la replicación y obtener merozoitos de segunda generación. Luego de esto se lleva a cabo la reproducción sexual o gametogonia, donde ocurre una diferenciación de los merozoitos en células sexuales masculinas, microgamonte, y células sexuales femeninas, macrogamonte. De esta forma aquellos macrogamontes fertilizados se convierten en ooquistes, los que esporulan en el mismo intestino delgado, desarrollándose en su interior cuatro esporozoitos (Barriga 2002, Fayer 2008).

La mayoría de los ooquistes maduros presentan doble pared gruesa, los que son liberados al medio para infectar otros hospederos, existe, sin embargo, un porcentaje de alrededor del 20% que presenta pared simple delgada, éstos liberan esporozoitos en el mismo hospedero generando una autoinfección, lo que explica la cronicidad de ciertos casos en hospederos inmunocompetentes, y la sobreinfección incluso letal en hospederos inmunocomprometidos (Barriga 2002, Bowman 2014).

La gran mayoría de los animales infectados presentan heces sin alteraciones. Si la enfermedad clínica se manifiesta, suele estar asociada con animales jóvenes y aquellos que se encuentran en perreras o criaderos, dado por efectos de hacinamiento, destete y/o deficiencia nutricional, situaciones que pueden causar estrés y exacerbar los efectos de la infección. Asimismo aquellos animales que presenten alguna alteración con otros agentes infecciosos o en general condiciones que provoquen inmunosupresión, son más propensos a desarrollar los signos clínicos de la infección. Cuando ocurren estas condiciones, *Cryptosporidium* causa diarrea de tipo acuosa sin mucosidad, ni sangre, ni melena, que es generada por una combinación de malabsorción intestinal de electrolitos y nutrientes, con hipersecreción de cloruro y agua, generando una fusión y atrofia de vellosidades e inflamación intestinal, lo que resulta en la pérdida de superficie de absorción y alteración en el transporte de nutrientes (Thompson y col 2008, Scorza y Tangtrongsup 2010). Es difícil diferenciar clínicamente la diarrea debida a criptosporidiosis de aquella que tiene otra causa, por esto la confirmación se obtiene por el hallazgo de los ooquistes en las deposiciones del paciente (Acha y Szyfres 2003).

3.2.3. Diagnóstico y Tratamiento

El método de diagnóstico convencional utilizado corresponde a la técnica de Ziehl-Neelsen, que detecta ooquistes en heces de individuos sospechosos, el método se fundamenta en que los ooquistes poseen una alta proporción de lípidos en su pared celular, que bajo la acción del calor, hace permeable la pared, permitiendo la infiltración de la fucsina, tiñendo los ooquistes en las muestras fecales (Morales 2011). Sin embargo, lograr la especificación y genotipificación de *Cryptosporidium* es difícil utilizando sólo técnicas convencionales. Debido a esto se han desarrollado técnicas serológicas, como la inmunofluorescencia y el test de ELISA, y técnicas más avanzadas como PCR basado en el estudio del ADN, para obtener la caracterización molecular de cada especie (Taylor y col 2007).

En cuanto al tratamiento no se conoce ningún método específico eficaz para la infección por *Cryptosporidium* en animales, de esta manera el tratamiento es paliativo, por tanto, se basa en detener la diarrea, deshidratación e infección secundaria por bacterias. De todas formas se han utilizado fármacos de soporte como la paromomicina, tilosina y azitromicina (Scorza y Tangtrongsup 2010, Bowman 2014).

3.2.4. Epidemiología

La transmisión de *Cryptosporidium* se produce por vía fecal-oral. La infección puede ocurrir directamente por coprofagia, por acicalamiento, por ingestión de presas infectadas, o indirectamente por ingestión de alimentos o agua contaminados (Thompson y col 2008, Scorza y Tangtrongsup 2010). Igualmente se ha descrito que los seres humanos pueden adquirir *Cryptosporidium* por contacto directo con personas, o con animales, e indirectamente por ingestión de alimentos y agua recreacionales (Gracenea y col 2009). Los ooquistes, estadio infectante, permanecen viables durante meses, a menos que estén expuestos a temperaturas extremas ($<0^{\circ}\text{C}$, o $>65^{\circ}\text{C}$), desecación o desinfectantes altamente concentrados (amoníaco al 5% y formalina al 10%), además es capaz de filtrarse y sobrevivir en aguas residuales en plantas de tratamiento (Gracenea y col 2009, Bowman 2014). En animales domésticos, este protozoo de distribución cosmopolita presenta valores epidemiológicos que no están del todo claros, presentándose con tasas de prevalencia que van del 0% al 44,8% en perros asintomáticos (Bowman y Lucio-Forster 2010). A nivel nacional, se han descrito tasas de prevalencias de un 1,9% en 582 caninos en la ciudad de Santiago (Gorman y col 2006), y 2,4% en 84 muestras de heces de perros en la ciudad de Valdivia (Muñoz 2014).

3.3. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS GÉNERO *Giardia*

3.3.1. Características morfológicas y especies

Giardia es un protozoo binucleado flagelado, extracelular, perteneciente al Phylum Retortamonada, Orden Giardiida y Familia Giardiidae. *Giardia duodenalis* (sinónimo: *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia*) infecta al menos 40 tipos de hospederos mamíferos, incluyendo humanos, mientras que otras especies de *Giardia* presentan un rango de hospederos más limitado como ocurre con: *Giardia agilis* en anfibios, *Giardia ardae* y *Giardia psittaci* en aves y *Giardia microti* y *Giardia muris* en roedores (Abeywardena y col 2015).

Tomando en consideración el amplio espectro de hospederos de *G. duodenalis*, ésta se reconoce como un complejo de al menos ocho ensamblajes diferentes, clasificados desde el A hasta el H,

término que hace referencia a los distintos genotipos del género lo que explica su amplia variabilidad genética (Bowman 2014, Abeywardena y col 2015). Tanto el ensamblaje A como el B, corresponden a ensamblajes zoonóticos, y presentan un amplio rango de hospederos, afectando a seres humanos, caninos y felinos. En cuanto a los ensamblajes C y D tienen especificidad marcada y se encuentran en perros, zorros y otros caninos; ensamblaje E en ganado (bovinos, ovinos, porcinos) y ensamblajes F y G se encuentran en felinos y roedores respectivamente, mientras que el ensamblaje H se ha identificado en focas y gaviotas. Aunque el ensamblaje A tienen un fuerte potencial zoonótico, el subtipo A-I afecta preferentemente a los animales domésticos y el A-II es más común en los seres humanos (Lee y col 2017); siendo el ensamblaje A el de mayor interés en la transmisión zoonótica de este protozoo (Bowman 2014).

3.3.2. Ciclo biológico y signos clínicos

Este protozoo tiene un ciclo de vida directo y se reproduce por replicación asexual, y dentro del ciclo se presentan dos etapas principales, una etapa de quiste, que posee forma ovoide y mide 8 - 12 μm de largo por 7 - 10 μm de ancho, estadio que es resistente en el ambiente, y una etapa de trofozoíto, que presenta un cuerpo piriforme y mide 9 - 21 μm de largo, 5 - 15 μm de ancho, y 2 - 4 μm de grosor, estadio activo que coloniza la luz intestinal del hospedero (Bowman 2007, Geurden y Claerebout 2010, Abeywardena y col 2015).

La infección de *Giardia* spp. en perros se inicia por la ingestión de quistes, estadio infectante, que por acción del ácido gástrico y enzimas pancreáticas desencadena la liberación de los trofozoítos en la parte anterior del intestino delgado, colonizando duodeno y yeyuno. Cada quiste produce dos trofozoítos móviles (Geurden y Claerebout 2010, Tangtrongsup y Scorza 2010, Abeywardena y col 2015). Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria en el tracto intestinal que se desplazan a través de flagelos, lo que permite la adherencia a las células intestinales mediante el disco ventral que genera el daño de manera mecánica de las células de la mucosa intestinal. Se produce un acortamiento y desorganización de las microvellosidades, que lleva a la consecuente vacuolización del citoplasma. Las células dañadas, son enviadas al lumen intestinal y reemplazadas por nuevas, recubriendo las vellosidades por enterocitos inmaduros con menor capacidad enzimática y de absorción, generándose un síndrome de mala absorción (Alonso de Vega 1999, Vignau y col 2005, Bowman 2014). La exposición a sales biliares conduce a la enquistación de trofozoítos en el yeyuno, formándose los quistes que salen por las heces y siendo inmediatamente infectantes después de la excreción, lo que permite completar el ciclo de vida dentro de 72 horas. De esta manera es el quiste maduro, la forma que se encuentra en las heces de los hospederos infectados; aunque también pueden aparecer trofozoítos, especialmente en heces diarreicas, pero son incapaces de causar infección, inactivándose en el medio ambiente (Geurden y Claerebout 2010, Tangtrongsup y Scorza 2010, Bowman 2014).

En perros la enfermedad puede presentarse como un estado subclínico, siendo animales asintomáticos durante meses o años, o con signología clínica que va desde ligeras molestias abdominales hasta dolor abdominal intenso y calambres, que incluye como signo clínico principal, diarrea resultante de una malabsorción y aumento de motilidad intestinal, siendo de tipo mucosa, esteatorreica, maloliente y no sanguinolenta. Se puede presentar en episodios irregulares, de forma persistente, incluso de tipo crónica, lo que lleva a anorexia, y al examen físico, el intestino delgado puede estar ligeramente engrosado (Bowman 2007, Bowman 2014).

La diarrea puede comenzar luego de 5 días después de la exposición a la infección; y luego de aproximadamente una o dos semanas comienzan a aparecer los primeros quistes en las heces. La diarrea generalmente es autolimitante en animales inmunocompetentes. La gravedad en la presentación puede estar relacionada con la interacción tanto del hospedero con el agente patógeno. La presencia de enfermedades inmunodepresoras o co-infecciones también puede potenciar el desarrollo de signos clínicos (Tangtrongsup y Scorza 2010, Bowman 2014).

3.3.3. Diagnóstico y Tratamiento

El diagnóstico clínico debe confirmarse mediante la detección del parásito en las heces, ya sea, los quistes en heces formadas, y/o trofozoítos en heces diarreicas, mediante examen microscópico, detección de antígenos, o bien reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Dado que la excreción de quistes es intermitente, especialmente en fases crónicas, un sólo examen de deposiciones puede demostrar sólo 50 a 70% de las infecciones, se recomienda realizar muestreos seriados del mismo animal durante 3 días consecutivos, o de varios animales dentro de la misma vivienda (Barriga 2002, Geurden y Claerebout 2010). Es así como, métodos de centrifugación y sedimentación como la técnica de Telemann que permite una mejor visualización de los quistes o trofozoítos, haciéndolos más fáciles de identificar aumentando el contraste de los núcleos propios del parásito. Los quistes de *Giardia* se pueden encontrar con frecuencia en las heces normales de hospederos asintomáticos, como también pueden no visualizarse en giardiasis clínica, por eso es de importancia realizar un muestreo seriado (Lopez y col 2006, Bowman 2014).

Dentro de los tratamientos se describe una combinación de productos de febantel- pirantel- praziquantel (37,8 mg/kg, 7,6 mg/kg, 7,6 mg/kg, respectivamente) por 3 días, que tiene como resultado en la mayoría de los animales la eliminación de los quistes. Además se ha demostrado que el tratamiento con albendazol (25 mg/kg cada 12 horas por 2 días) detiene la liberación de quistes. Otros tratamientos que se han utilizado para la giardiasis canina incluyen quinacrina (6,6 mg/kg dos veces al día por 5 días), metronidazol (22 mg/kg por vía oral dos veces al día por 5 días) y tinidazol (44 mg/kg una vez al día por 3 a 6 días) (Bowman 2014).

3.3.4. Epidemiología

Giardia se puede transmitir por vía fecal-oral, después del contacto directo o indirecto con hospederos infectados. El contacto directo con un hospedero infectado, principalmente un animal joven, es considerado como una fuente importante de infección para los hospederos susceptibles, además la infección también puede propagarse indirectamente a través de un ambiente contaminado, como la vivienda de los animales, o fuentes de aguas contaminadas. Igualmente los seres humanos, pueden adquirir la infección directamente del contacto con otros seres humanos infectados, o a través de animales infectados (transmisión zoonótica), o indirectamente por alimentos o fuentes de agua contaminadas (Abeywardena y col 2015).

La tasa de prevalencia de infección por *Giardia* en caninos varía dependiendo de la población, el área geográfica, el método diagnóstico y el estado de salud del animal. Pueden ir desde un 5% a un 15% en caninos sanos o clínicamente enfermos (Tangtrongsup y Scorza 2010). En el caso de una detección mediante técnicas más sensibles como la prueba de ELISA, se han determinado rangos entre un 10% a un 40% (Bowman 2010). Dentro de los datos estadísticos en el país, específicamente en la ciudad de Santiago, se encuentran los presentados por López y col (2006) en

una población canina de 972 animales encontrándose una frecuencia de presentación de 21,7% para *Giardia duodenalis*, un 4,1% en 582 caninos (Gorman y col 2006) y en la ciudad de Valdivia según el estudio realizado por Muñoz (2014), donde se analizaron 84 muestras de heces, no se identificaron muestras positivas para este protozoo.

Dada las características zoonóticas de estos parásitos y su importancia en salud pública, radica su relevancia de realizar estudios de detección de los protozoos y su asociación con características propias del hospedero y del ambiente en que se desarrolla, llevando a cabo esta investigación en la localidad rural de Isla del Rey ubicada en la región de Los Ríos.

3.4. HIPÓTESIS

Con los antecedentes presentados anteriormente se plantea como hipótesis que los perros de la localidad de Isla del Rey tendrán una frecuencia de presentación de menos del 20%, tanto para *Cryptosporidium* spp. como para *Giardia* spp.

3.5. OBJETIVOS

3.5.1. Objetivo general

Determinar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de perros (*Canis lupus familiaris*) y su asociación según sector geográfico y factores relacionados a la tenencia de perros provenientes de comunidad rural de Isla del Rey, comuna de Corral, región de Los Ríos, Chile.

3.5.2. Objetivos específicos

- Identificar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. mediante técnica de Ziehl Neelsen en muestras fecales y quistes de *Giardia* spp. mediante técnica de Telemann en muestras fecales de perros provenientes de comunidad rural de isla del Rey, comuna de Corral, región de Los Ríos, Chile.
- Determinar frecuencia de presentación en conjunto para *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp.
- Asociar frecuencia de presentación tanto para *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp. en relación a ruralidad/lejanía del sector, densidad poblacional canina, edad, responsabilidad sanitaria de parte del propietario, grado de confinamiento.
- Determinar y asociar frecuencia de presentación tanto para *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp. con un muestreo simple y seriado.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Ubicación del estudio

El muestreo se realizó en la localidad de Isla del Rey, ubicada a 10 km en dirección S-W de la ciudad de Valdivia, región de los Ríos, Chile ($39^{\circ} 54' S$ y $73^{\circ} 18' W$) (Figura 1). Esta isla se encuentra delimitada al norte por el río Valdivia; al oeste, sur y suroeste por el río Tornagaleones; y al noroeste por el río Canteras. Posee una superficie total de 5.100 hectáreas, de las cuales 379 hectáreas son de uso agrícola y ganadero, estableciéndose en este sector la comunidad. El clima de esta zona se describe como templado cálido lluvioso con influencias mediterráneas, caracterizado por una temperatura media anual baja, abundante humedad relativa y alta pluviosidad (DMC 2001, Hauenstein y col 2001).



Figura 1. Mapa de Isla del Rey, región de Los Ríos, Chile. Señala los cuatros sectores residenciales donde se realizó el muestreo: Lo Venegas (1), Carbonero (2), Isla Centro (3) y Las Coloradas (4).

Además se identifica un sector inhabitado cubierto por plantaciones de pino y eucaliptos (5).
Modificado de Google Earth.

4.1.2. Material

El material utilizado fueron muestras fecales de caninos domésticos pertenecientes a las familias de la comunidad de Isla del Rey, mediante un proyecto de hidatidosis que se está llevando a cabo a través del Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, en colaboración con la compañía biofarmacéutica Tecnovax S.A.

De esta manera, mediante un censo realizado con anterioridad se obtuvo un registro acabado de la cantidad de animales presentes en la isla y su distribución espacial, posteriormente se realizaron viajes programados periódicos durante los meses de abril hasta junio de 2016. Se efectuó un muestreo por conveniencia, obteniéndose un total de 89 muestras fecales (34,7%), de un universo de 256 perros registrados en la isla.

4.2. MÉTODO

4.2.1. Obtención de muestras

Posterior a la obtención del material fecal por parte de Troncoso (2017). Las muestras se recolectaron en bolsas transparentes de polietileno, posteriormente selladas y debidamente identificadas, fueron depositadas en un cooler refrigerante a 4°C, siendo transportadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, lugar donde fueron depositadas en tubos Falcon® de 50ml y conservadas en alcohol al 70% quedando almacenadas en espera de su análisis.

4.2.2. Procesamiento de muestras

Para el diagnóstico de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se efectuó la técnica de tinción Ziehl Neelsen y para el diagnóstico de quistes de *Giardia* spp. se utilizó la técnica Telemann.

4.2.2.1. Técnica Ziehl Neelsen. Se maceró y resuspendió la muestra de material fecal realizando un tamizado con agua, con una varilla se filtró el contenido a través de un embudo a un vaso de vidrio, que sedimentó por 20 minutos, se eliminó el sobrenadante, se depositó el sedimento en un tubo de ensayo, el que se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos, posteriormente se eliminó el sobrenadante y con una micropipeta se obtuvieron 100 µl, con ello se realizó un frotis sobre un portaobjeto el que se dejó reposar durante 24 horas. Una vez secado el frotis, con una pipeta se añadió metanol, una vez seco, se tiñó con fucsina fenicada que se distribuyó sobre toda la muestra, se flameó en forma de abanico hasta la emisión de vapores. Luego, se esperó 20 minutos para que el colorante penetrara la pared celular del ooquistes. Posteriormente la muestra se lavó con agua, se le adicionó alcohol ácido por 30 segundos hasta eliminar el exceso de fucsina. Finalmente se tiñó con azul de metileno por 5 minutos, se lavó nuevamente con agua y se dejó secar a temperatura ambiente. Una vez seca la muestra se procedió a la observación de ésta bajo el microscopio óptico a 100x con la adición de aceite de inmersión.

4.2.2.2. Técnica Telemann. Las muestras fecales se homogenizaron con una varilla de vidrio y se filtró el sedimento a través de un embudo a un vaso de vidrio, se sedimentó por 20 minutos, se eliminó el sobrenadante, depositando el sedimento en un tubo de ensayo al que se le añadió 1 ml de éter y se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos. Posteriormente se eliminó el sobrenadante y con una micropipeta se obtuvo una pequeña cantidad de sedimento, la que fue depositada sobre

un portaobjetos. Finalmente se agregó una gota de lugol, depositando un cubreobjetos permitiendo la posterior visualización bajo microscopio óptico con objetivo de 40x.

4.2.3. Análisis de datos

Una vez obtenidos los resultados fueron ingresados a una base de datos en Microsoft Excel® 2010 y posteriormente se realizó un análisis estadístico descriptivo. Para el análisis epidemiológico se aplicó el test exacto de Fisher y Odd Ratio con un nivel de confianza del 95% con el software Epi Info 7.2™, para determinar si existe asociación entre la enfermedad y las variables ruralidad, edad, responsabilidad sanitaria, confinamiento, sector de procedencia y número de muestras. Las variables analizadas fueron seleccionadas a partir de la información presentada en el trabajo de Antilef (2016), donde se describe:

1. Edad: Entregada por el propietario, o bien, se verificó mediante cronometría dentaria:
 - Menor de 1 año.
 - 1 a 4,9 años: Individuos desde 1 año y más.

2. Responsabilidad Sanitaria: Realización por parte del dueño de al menos alguno de estos manejos veterinarios.
 - Atención Médico Veterinaria: El perro fue llevado con el profesional.
 - Regular (una o más visitas anuales) y Esporádica (sólo en caso de enfermedad u ocasionalmente).
 - Sin atención: Cuando no la ha habido.
 - Manejos sanitarios: En relación a la vacunación antirrábica, otras vacunaciones y desparasitación interna, se manejaron las siguientes opciones:
 - Vacunación antirrábica: Vigente/No Vigente/ Sin vacunación.
 - Otras vacunaciones: Parvovirus- coronavirus/Séxtuple- Óctuple/Sin vacunación.
 - Desparasitaciones: Vigente/No vigente.

3. Grado de confinamiento:
 - Permanente: aquellos que se encuentran en su residencia las 24 horas del día.
 - Temporal: aquellos perros que en alguna hora se encuentran en la vía pública.
 - Sin confinamiento: pueden abandonar la vivienda las veces y el tiempo que quieran.

4. Ruralidad/ Lejanía: Se determinó que mediante la distribución geográfica de la población de Isla del Rey, Figura 1, la zona de Las Coloradas al encontrarse apartada del núcleo de la localidad fue separada dado sus características de ruralidad, mientras que los sectores de Lo Venegas, Carbonero y Centro fueron reunidos en una sola unidad.

5. Número de muestras: De acuerdo a cantidad de muestras tomadas por animal. Se realizó una toma única de muestra o bien muestreo seriado de 2 o 3 muestras del mismo animal, que fueron tomadas en diferentes días.

5. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS TÉCNICA ZIEHL NEELSEN

Mediante la técnica de Ziehl-Neelsen para microorganismos ácido alcohol resistentes, se obtuvieron 11 muestras positivas (12,4%) del agente protozoario *Cryptosporidium* spp. donde se observó la presencia de estructuras parasitarias esféricas de tamaño entre 4 – 6 μm , con bordes definidos y teñidos de color fucsia (Figura 2 y 3).

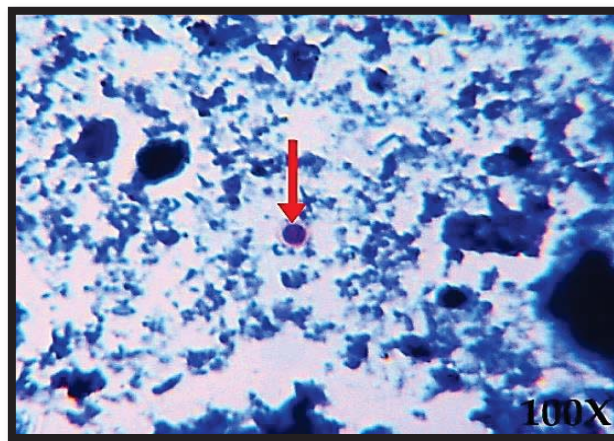


Figura 2. Observación microscópica de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. mediante técnica Ziehl Neelsen (100x). Muestra fecal n° 5, canino, macho, edad entre 1 - 4,9 años, proveniente de sector Las Coloradas.

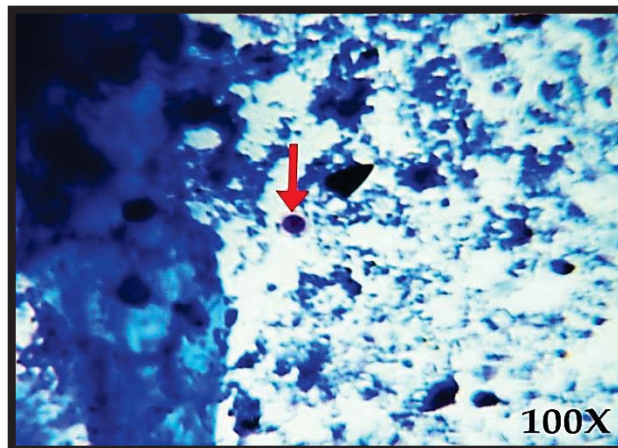


Figura 3. Observación microscópica de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. mediante técnica Ziehl Neelsen (100x). Muestra fecal n° 39, canino, hembra, edad entre 1 - 4,9 años, proveniente de sector Carbonero.

5.2. RESULTADOS TÉCNICA TELEMANN

Mediante la técnica Telemann se obtuvieron 12 (13,5%) muestras positivas para el agente protozoario *Giardia* spp. donde se observó la presencia de estadio infectante, quiste de forma ovalada y un tamaño aproximado de 8 – 12 μm de longitud x 7 – 10 μm de ancho, presentó bordes definidos y teñidos con lugol (Figura 4 y 5).



Figura 4. Observación microscópica de quistes de *Giardia* spp. mediante técnica Telemann (40x).
Muestra fecal n°47: canino macho, edad entre 1 - 4,9 años, proveniente de sector Carbonero.

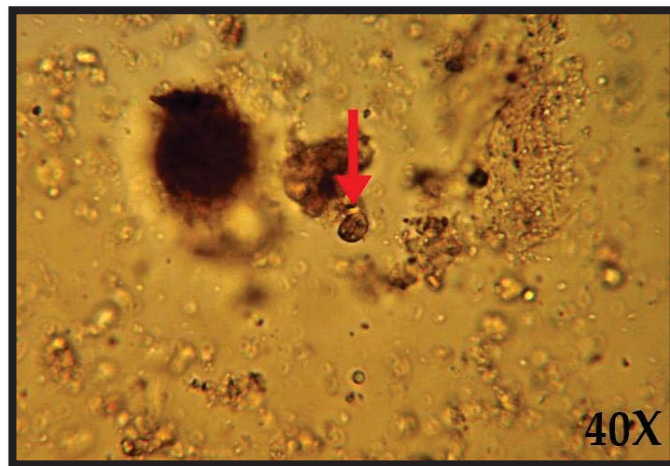


Figura 5. Observación microscópica de quistes de *Giardia* spp. mediante técnica Telemann (40x).
Muestra fecal n° 56: canino macho edad <1año, proveniente de sector Carbonero.

5.3. FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN

Analizadas las 89 muestras, se obtuvo una frecuencia de presentación de 12,4% (n=11) de muestras fecales positivas a *Cryptosporidium* spp. De igual manera se obtuvo una frecuencia de presentación de un 13,5% (n=12) de muestras fecales positivas a *Giardia* spp. como se puede observar en el Cuadro 1, presentándose una mayor frecuencia de presentación de *Giardia* spp. con un 13,5% de prevalencia. Además se determina la presencia de biparasitismo en los caninos de Isla del Rey, observándose una frecuencia de presentación de un 4,5% (n=4).

Cuadro 1: Frecuencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp., quistes de *Giardia* spp., y coinfecciones pesquisados en las muestras fecales de caninos de Isla del Rey, Valdivia (n= 89).

Género	Positivos n/total	(%)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	11/89	12,4
<i>Giardia</i> spp.	12/89	13,5
Biparasitismo	4/89	4,5

En el cuadro 2 se determina la frecuencia tanto de animales infectados como no infectados de cada protozoo en relación a la totalidad de perros muestreados.

Cuadro 2: Número y porcentaje de muestras positivas y negativas de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. de perros de Isla del Rey (n=89).

	<i>Cryptosporidium</i>		<i>Giardia</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%
Positivos	11	12,4	12	13,5	23	25,8
Negativos	78	87,6	77	86,5	66	74,2
Total	89	100	89	100	89	100

En el cuadro 3 se aprecia la presencia de ambos protozoos de acuerdo al sector de procedencia de los animales, es así como se observa un mayor porcentaje de parasitismo en relación al total de animales positivos a alguno de los protozoos en el sector de Carbonero con 43,5% (n=10), seguido por el sector de Las Coloradas con 34,8% (n=8), a diferencia de los sectores Lo Venegas y Centro donde las frecuencias fueron mucho menores con un 13% (n=3) y 8,7% (n=2), respectivamente.

Cuadro 3: Número y porcentaje de ooquistes y quistes de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. pesquisados en las muestras fecales de caninos por cada sector de Isla del Rey, Valdivia.

	Resultado	Lo Venegas		Carbonero		Centro		Las Coloradas		Total	
		n/total	%	n/total	%	n/total	%	n/total	%	n/total	%
<i>Cryptosporidium</i>	Positivo	1/11	9,1	5/35	45,5	2/28	18,2	3/15	27,3	11/89	47,8
<i>Giardia</i>	Positivo	2/11	16,7	5/35	41,7	0/28	0	5/15	41,7	12/89	52,1
Total		3/11	13,0	10/35	43,5	2/28	8,7	8/15	34,8	23/89	100

En el cuadro 4 se observa el resultado de cada parásito detectado de acuerdo al número de muestras realizadas por animal, donde no se reconoce diferencia estadística para *Cryptosporidium*, en cambio para *Giardia* existe diferencia significativa ($p=0,0233$) entre los caninos infectados con este protozoo y un muestreo seriado.

Cuadro 4: Número y porcentaje de muestras positivas de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en relación a tipo de muestreo (simple/seriado) en muestras fecales de caninos de Isla del Rey, Valdivia.

Número de Muestras	<i>Cryptosporidium</i>			<i>Giardia</i>		
	Positivo		Chi ²	Positivo		Chi ²
	n	%		n	%	
Simple	9/11	10,1	0,34	5/12	4,4	0,01
Seriado	2/11	2,2		7/12	8,9	

Finalmente en el cuadro 5, se presenta tanto la frecuencia absoluta y como la frecuencia relativa de cada protozoo, en relación a características ambientales y propias de los caninos. La lejanía/ruralidad, que explica las distancias geográficas de cada sector, separando Las Coloradas con los demás sectores, por considerarse la zona más apartada y de mayor ruralidad; determinó que para *Cryptosporidium* no se presenta diferencia significativa, en contraste de lo obtenido para *Giardia* donde se determinó que existe diferencia significativa ($p=0,0136$) en relación a esta característica.

En cuanto a la edad que se separó en dos categorías (cachorro <1 año y adulto > 1 año) y a la responsabilidad sanitaria por parte de los dueños (atención Médico Veterinaria, vacunación y desparasitación), ninguno de los tópicos anteriores mostró diferencia significativa para alguno de los protozoos.

El estado de confinamiento del animal (permanente, temporal o no presenta confinamiento) concluyó ausencia de diferencia significativa para *Cryptosporidium*, mientras que para *Giardia* se demostró una diferencia significativa ($p=0,0128$) relacionado al estado de confinamiento de forma permanente.

Cuadro 5: Número y Porcentaje de *Cryptosporidium* y *Giardia* en relación a análisis de diversos aspectos ambientales (lejanía/ruralidad) y propios de los caninos (edad, responsabilidad sanitaria y grado de confinamiento) de Isla del Rey, Valdivia.

	<i>Cryptosporidium</i>				<i>Giardia</i>			
	Positivo		Chi ²	OR/IC	Positivo		Chi ²	OR/IC
	n/total	%	Valor p		n/total	%	Valor p	
Lejanía/Ruralidad								
Las Coloradas	3/15	3,3		2,0	5/15	5,6		4,7
Lo Venegas			0,32				0,01	
Carbonero, Centro	8/74	8,9		0,4 - 8,9	7/74	7,8		1,2 - 18
Total positivos	11/89				12/89			
Edad								
< 1 año	2/9	2,2		2,2	3/9	5,6		3,9
> 1 año	9/80	10,1	0,34	0,1 - 14	9/80	7,8	0,09	0,8 - 18
Total positivos	11/89				12/89			
Responsabilidad sanitaria								
Sin manejos sanitarios	6/66	6,7		0,4	9/66	3,3		1,05
Mínimo 1 manejo	5/23	5,6	0,11	0,1 - 1,3	3/23	10,1	0,6	0,2 - 4,2
Total positivos	11/89				12/89			
Grado Confinamiento								
Permanente	5/31	5,6		1,66	8/31	3,3		4,6
Sin confinamiento o temporal	6/58	6,7	0,42	0,4 - 5,9	4/58	10,1	0,01	1,1 - 23,0
Total positivos	11/89				12/89			

6. DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos es aceptada la hipótesis planteada, ya que confirma valores menores al 20% para ambos parásitos, en el caso de *Cryptosporidium* alcanzó una frecuencia de presentación del 12,4% (n=11) y en cuanto a *Giardia* se pesquisó un porcentaje del 13,5% (n=12).

A nivel nacional este estudio corresponde al primero que incorpora la detección de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en perros de comunidades rurales, y en particular de una zona aislada como lo es Isla del Rey. Gorman y col (2006) en la ciudad de Santiago determinó una frecuencia de presentación para *Giardia* spp. de un 4,1% (n=24), y para *Cryptosporidium* spp. de 1,9% (n=11) dentro de un universo de 582 caninos, evaluando perros que asistieron a consultas en clínicas veterinarias de dicha región. Otro estudio realizado en la ciudad de Valdivia por Muñoz (2014) donde se examinaron 84 muestras fecales de caninos de diversas clínicas veterinarias, entregando una frecuencia de presentación de un 2,4% (n=2) para *Cryptosporidium* spp, y una ausencia para *Giardia* spp., resultados que difieren de este estudio, ya que el presente trabajo se enfoca en animales de procedencia rural, que además pertenecen a una isla ubicada a 10 km de la ciudad de Valdivia, por tanto, la gran mayoría de estos caninos no cuentan con atención médico veterinaria periódica, como así lo demuestra Antilef (2016), donde un 15,6% de los animales tiene una atención médico veterinaria esporádica o regular, mientras que un 84,4% no presenta atención, de un universo total de 256 caninos pertenecientes a esta isla.

Dentro de otras publicaciones nacionales que presentó una prevalencia similar al presente estudio, fue el desarrollado por López y col (2006) en Santiago de Chile, con una frecuencia de presentación de un 21,7% para *Giardia intestinalis* (n=211), dentro de una población canina de 972 animales; estudio que se enfocó en animales con signología gastrointestinal, principalmente diarrea, justificando los valores obtenidos. Además se destaca su elaboración mediante un muestreo seriado, realizando 3 muestras fecales frescas día por medio, como es recomendado por diferentes autores (Barriga 2002, Geudern y Claerebout 2010).

A nivel sudamericano, trabajos realizados bajo condiciones similares, mediante el análisis de muestras fecales de caninos en comunidades rurales, se pueden estudiar publicaciones efectuadas en la región de Puno, Perú, donde se examinaron 123 muestras fecales de caninos, que entregaron prevalencias de 26,8% para *Cryptosporidium* spp. (Celis y col 2015), y 14,6% para *Giardia* spp con la técnica de sedimentación espontánea según el trabajo de Pablo y col (2012), donde se muestrearon 130 perros de comunidades campesinas de la misma región. Asimismo dentro de otra región de Perú, en la Provincia constitucional del Callao, Araujo (2004) obtuvo resultados de frecuencia de presentación para *Giardia* spp. de un 9,3% de un total de 385 animales muestreados, siendo estos resultados muy similares a los entregados en el presente estudio.

En otros estudios se encuentra el elaborado por Rodríguez y col (2009) que evaluó 132 muestras de materia fecal de mascotas atendidas en 3 consultorios veterinarios de la ciudad de Tunja, Colombia, entregando prevalencias de un 16,4% para *Cryptosporidium*. Por otra parte, se observan frecuencias de presentación diferentes en trabajos realizados en países como China donde Li

(2015) procesó 267 muestras de heces caninas de hospitales y tiendas de mascotas con resultados de 2,2% para *Cryptosporidium* spp. y 4,5% para *Giardia duodenalis*, resultado que contrasta del presente estudio, ya que la mayoría de los animales provenían de tiendas de mascotas o de hospitales veterinarios sin presentar signología gastrointestinal, ni diarrea. Además, el estudio de Li (2015) analizó sólo una muestra simple por animal, y tal como anteriormente se menciona, es recomendado efectuar un muestreo seriado del paciente.

Dentro de otros trabajos, se presenta el estudio llevado a cabo en Francia donde se recogieron un total de 116 muestras fecales caninas, analizadas mediante la técnica de flotación con solución de sulfato de zinc y PCR, determinando una frecuencia de presentación del 2,6% para *Cryptosporidium*, y de un 25% para *Giardia*; siendo éste último el parásito que presentó la mayor frecuencia. Este resultado podría asociarse al uso de estos 2 métodos diagnósticos permitiendo obtener una mayor sensibilidad (Osman y col 2015).

Con respecto a las co-infecciones en este estudio se determinó luego de analizar las muestras positivas para ambos protozoos, una existencia de un 4,5% (n=4) de biparasitismo, relación que se ha demostrado en otros estudios como el realizado en Francia por Osman y col (2015) que obtuvo un 2,6% de co-infección; igualmente en la ciudad de Sao Paulo, Brasil Funada y col (2007) mostró un 16% de perros infectados con *Giardia* y *Cryptosporidium*, y asimismo Sotelo y col (2013) en la ciudad de Lima, Perú encontró una infección simultánea en 10 canes (3,3%). Estos resultados respaldan la probabilidad de ocurrencia de esta infección mixta, la que puede ser causada por diversos factores intrínsecos de los agentes parasitarios. Ambos son protozoos de pequeños tamaño, que comparten características epidemiológicas y de transmisión, al poseer como vía de transmisión la ruta oro-fecal, sus estadios infectantes son altamente resistentes a condiciones medio ambientales y de desinfección. Tanto *Giardia* como *Cryptosporidium* actúan como enteropatógenos con una patogénesis muy similar que lleva a cuadros principalmente subclínicos, pero que al infectar a hospederos susceptibles o inmunosuprimidos genera cuadros clínicos que se evidencian en la presentación de signología poco específica, por lo que es difícil determinar un diagnóstico certero través del examen clínico (Abeywardena y col 2015, Bowman 2014). Dentro de los signos clínicos la mayor diferenciación entre ambos, puede darse mediante las características del tipo diarrea, mientras que para *Giardia* se caracteriza por ser de tipo esteatorreica, para *Cryptosporidium* es netamente de tipo acuosa, y ninguno de los dos presenta heces de tipo sanguinolenta lo que puede ayudar a diferenciarlos de otros agentes patógenos causantes de diarrea (Thompson y col 2008, Bowman 2014).

Para realizar el análisis de los animales positivos de acuerdo al sector de residencia, se engloba a los perros infectados por ambos protozoos obteniéndose una totalidad de 23 perros positivos en Isla del Rey, que corresponde a un 25,8% del total de animales muestreados. Dentro de este resultado se profundiza en cada sector, observándose una mayor frecuencia de presentación para Carbonero con un 43,5% (n=10) de perros infectados en relación al total de positivos, datos que coinciden con el estudio realizado previamente por Troncoso (2017), quien obtuvo un mayor porcentaje de infectados en este mismo sector con un 18% (n=23) de positividad para parásitos gastrointestinales dentro de un total de 42 animales positivos. El sector de Carbonero corresponde al lugar de desembarque y punto de entrada a la isla, es el que presenta la mayor concentración de población tanto humana como canina, por ende, se facilita la transmisión de parásitos dado al mayor contacto entre infectados o bien con heces contaminadas.

Si bien en este estudio un porcentaje del muestreo se realizó de manera única, al analizar los resultados obtenidos para el caso de *Giardia* spp., es posible apreciar la influencia de efectuar un muestreo seriado, ya que de un total de 12 perros infectados, un 5,6% (n=5) fueron pesquisados mediante muestreo simple, mientras que un 7,8% (n=7) fue identificado como infectado en muestreo seriado. Esto se debe al comportamiento de excreción de los estadios infectantes para este protozoo, que es de tipo intermitente, especialmente en fases crónicas, por lo que se recomienda realizar muestreos múltiples, del mismo animal durante 3 días consecutivos o de varios animales dentro de la misma vivienda (Barriga 2002, Geudern y Claerebout 2010). Además de acuerdo a la disponibilidad de las muestras al momento de su análisis, se observó que 4 animales pesquisados como positivos de los 7 realizados de manera seriada fueron detectados en la primera muestra del animal (Anexo 2) lo que confirma la importancia de realizar un muestreo seriado o bien múltiple.

Particularmente para el caso de *Giardia*, de acuerdo a la distribución de la población canina de Isla del Rey, el 83,1% (n=74) reside en su mayoría en los sectores de Lo Venegas, Centro y Carbonero, los que presentan en conjunto un 7,8% (n=7) de perros infectados con este protozoo, mientras que el 16,8% (n=15) restante de la población canina se ubica en el sector más alejado de la isla, que corresponde a Las Coloradas, la que presenta un 5,6% (n=5) de animales positivos a *Giardia*. Pese a que en general la localidad de Isla del Rey posee condiciones de aislamiento geográfico y ruralidad, en el sector de Las Coloradas estas características se tornan aún más evidentes, ya que esta zona es la más alejada de la Isla (Figura 1). Estas características pueden explicar los resultados obtenidos, ya que existe dificultad en el traslado de las mascotas hasta la ciudad de Valdivia para recibir atención médico veterinaria, sumado a la falta de conocimiento de enfermedades que pueden afectar a los caninos, provoca que éstos carezcan de manejos sanitarios. Además la ruralidad del sector, conlleva a que los perros formen parte de las labores de campo y pastoreo actuando como portadores y diseminadores del parásito, liberando formas de resistencia en el ambiente, perpetuando la presentación de *Giardia* en el lugar, además de poder actuar como diseminador de agentes parasitarios para otras especies animales, incluido el ser humano (Pablo y col 2012, Urra 2016, Antilef 2016).

En relación al análisis entre la edad y la presencia de estos protozoos no se observó diferencia estadística, ni una asociación significativa, que se explica por una desproporción de las muestras, es decir, la distribución en que se presentan ambas categorías, animales menores de 1 año corresponden sólo un 10,1% (n=9), mientras que los mayores de 1 año son 89,8% (n=80), por tanto, no es posible realizar un adecuado estudio estadístico.

Igualmente al profundizar en el tópico enfocado en la responsabilidad sanitaria no se determinó diferencia estadística para ninguno de los parásitos, dado principalmente por las características en el control de estos protozoos, ya que los antiparasitarios internos comerciales, son desarrollados para eliminar principalmente parásitos helmintos, por lo que no existe un control antiprotozoario efectivo que evite el desarrollo de la enfermedad, como ocurre con *Giardia* donde se utiliza una combinación de medicamentos antihelmínticos y antibióticos como el metronidazol (Bowman 2014) para detener la presentación enfermedad una vez instaurada. Igualmente como sucede con *Cryptosporidium*, que carece de medicamentos que eliminen el parásito, el tratamiento es directamente sintomático, donde se utiliza una combinación de antibióticos que evita la contaminación secundaria con bacterias (Scorza y Tangtrongsup 2010, Bowman 2014). Por ende

aunque el animal presente los manejos sanitarios correspondientes, éstos no son eficaces para estos agentes, como se demuestra en este estudio que pese a presentar al menos un manejo sanitario, ya sea vacunación, desparasitación vigente o atención médico veterinaria igualmente se detectó un 9,0% (n=8) de animales infectados ya sea con *Giardia* o *Cryptosporidium*.

De acuerdo a lo obtenido en el análisis estadístico de *Giardia* para la variable confinamiento, se observa que un 65,1% (n=54) de los caninos examinados no presentaban confinamiento o bien era de forma temporal. De éstos un 4,4% (n=4) resultó positivo a *Giardia*, mientras que aquellos con confinamiento permanente (n=23) el 8,9% (n=8) resultó positivo a la presencia de este protozoo, valores que permiten confirmar que el ambiente en que el animal habita es fundamental para la transmisión de este parásito. Tal como lo manifiesta Abeywardena y col (2015), donde estipulan que la infección por *Giardia* puede ocurrir por contacto directo con animales infectados, ingestión de alimento o agua contaminados y también de forma indirecta a través de un ambiente contaminado, como la vivienda de los animales, características que perpetúan la infección en el lugar; además de pobres condiciones higiénicas que incrementan el riesgo de infección (Zárate y col 2013). Sumado a esto, dada las particularidades de los quistes de *Giardia* que son inmediatamente infectantes luego de ser excretados, y además son capaces de permanecer viables durante períodos prolongados de tiempo en ambientes fríos y húmedos, favorecen la persistencia de infección en el hospedero, cuando de manera permanente éste se encuentra en ambientes con alta carga parasitaria (Geurden 2010 y Abeywardena y col 2015).

De acuerdo a los valores obtenidos en relación a la frecuencia de presentación para *Cryptosporidium* y *Giardia* en el presente estudio, sugiere considerar las condiciones y características propias de la isla y sus habitantes, ya que éstas podrían facilitar el desarrollo y mantenimiento de estos agentes protozoarios. Al encontrarse la Isla del Rey en la provincia de Valdivia, comparte un clima que se clasifica como templado lluvioso con influencia mediterránea (Urra 2016), condiciones que favorecen la viabilidad de quistes de *Giardia* y ooquistes *Cryptosporidium* los cuales son capaces de permanecer infectantes durante períodos prolongados de tiempo, particularmente en ambientes fríos y húmedos, lo que facilita la transmisión entre hospederos (Abeywardena y col 2015). Estas características permiten una mayor presentación de estos protozoos, como se observa en un trabajo realizado en comunidades rurales de Perú, donde se determinó que el lugar con mayor prevalencia correspondía a zonas con temperatura más bajas y con una alta precipitación pluvial, condiciones que favorecen la permanencia de los quistes de *Giardia* spp y ooquistes de *Cryptosporidium* en el medio ambiente (Pablo y col 2012).

Otras características que poseen estos protozoarios es el tamaño microscópico, que no supera los 15 μm para *Giardia* y los 6–7 μm para *Cryptosporidium* y la baja gravedad específica de los quistes y ooquistes, lo que facilita la diseminación en agua, las que pueden ser utilizadas para riego o bebida de animales de abasto y mascotas, incluso humanos (Abeywardena y col 2015). Como ocurre en la comunidad de Isla del Rey, donde la distribución de agua de consumo para las familias del sector de Lo Venegas, Carbonero y Centro se realiza mediante el programa gubernamental de APR (agua potable rural) que utiliza fuente de agua natural proveniente del estero Venegas¹, redes que ocupan filtros con medidas de 50 μm^2 . Para el caso del sector de Las Coloradas utiliza un sistema independiente de distribución de agua potable³ desarrollado por la comunidad bajo los mismos estándares que el programa APR, usando como fuente una vertiente natural del sector La Maciza, condiciones que no impiden la llegada de estos agentes en el agua de bebida de la comunidad.

Además, estos estadios infectantes son resistentes a la mayoría de los métodos de desinfección de rutina utilizados para el agua potable (Abeywardena y col 2015), por lo tanto, el desinfectante utilizado en ambos sistemas de distribución de agua de Isla del Rey que corresponde únicamente a pastillas de cloración^{1,3} aplicadas de forma periódica, no genera un efecto sobre ninguno de estos parásitos.

Tomando en cuenta los antecedentes expuestos para *Cryptosporidium* y *Giardia* es importante recalcar que los resultados pesquisados son un reflejo de una parte de la población canina del lugar, y la presencia de estos protozoos representa una fuente constante de contaminación al medio ambiente lo que se traduce en un riesgo tanto para los propietarios de los perros como para las personas que no poseen mascotas. Por otro lado se sugiere realizar un muestreo de tipo seriado, que además englobe a la población canina en su totalidad, con el fin de aumentar las probabilidades de pesquisar ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia*, como se ha mencionado previamente dado las características de excreción intermitente de los estadios infectantes. Además para realizar un estudio más acabado dentro de la isla, y conocer en detalle el alcance de estos protozoos, considerando sus características morfológicas e infectantes, se sugiere analizar la presencia de estos parásitos en las fuentes de agua que abastecen a la comunidad, y en los propios habitantes de la isla, principalmente a la población más expuesta.

¹*Comunicación personal:* Zulema Fuentes, comité programa APR (agua potable rural) del sector Carbonero, Isla del Rey. Consultada 11 de Julio de 2017.

²*Comunicación personal:* Empresa Cotaco, Compañía de tratamientos de agua y combustión limitada. Consultado el 16 de Agosto de 2017.

³*Comunicación personal:* Cipriano Soto, comité agua potable sector Las Coloradas, Isla del Rey. Consultado 11 de Septiembre de 2017.

6.1. CONCLUSIONES

Se determinó que un 12,4% (n=11) de los caninos de Isla del Rey se encuentra infectado por *Cryptosporidium* spp. sin establecerse asociación estadística con respecto al sector, responsabilidad sanitaria, edad ni confinamiento.

Se determinó que un 13,5% (n=12) de los caninos de Isla del Rey se encuentra infectado por *Giardia* spp. estableciéndose asociación estadística con respecto a las variables sector, confinamiento y número de muestreo.

Un 4,5% (n=4) de los caninos de Isla del Rey se encuentra infectado con ambos parásitos.

Se estableció que es necesario realizar muestreo seriado o múltiple para aumentar la detección de ambos agentes protozoarios.

Los valores encontrados para ambos parásitos, indican una fuente de contaminación al medio ambiente que es persistente, implicando un peligro tanto para la población humana, como animal, dado el carácter zoonótico de los protozoos y al no uso de medicamentos antiprotozoarios contra estos agentes.

7. REFERENCIAS

- Abeywardena H, A Jex, R Gasser. 2015. A perspective on *Cryptosporidium* and *Giardia*, with an emphasis on bovines and recent epidemiological findings. *Adv in Paras* 88, 243 – 301.
- Acha P, Szyfres B. 2003. Protozoosis. En: Acha P, Szyfres B (eds). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen III: Parasitosis*. 3a ed. Editorial O.P.S. Washington D.C., EE.UU, Pp 23 – 26.
- Acosta G, Cleaveland S, Cunningham A, Bronsvoort B. 2010. Demography of domestic dogs in rural and urban areas of the Coquimbo region of Chile and implications for disease transmission. *Preventive Vet Med* 94, 272–281.
- Alonso de Vega F. 1999. Giardiasis: parasitosis del perro y del gato. En: Cordero del Campillo M, F Rojo Vásquez (eds). *Parasitología Veterinaria*. 1^{era} ed. Mc Graw-Hill, Interamericana, Madrid, España, Pp 620 – 623.
- Antilef B. 2016. Censo, caracterización demográfica y manejos de la población canina (*Canis lupus familiaris*) de Isla del Rey, provincia de Valdivia, Región de los Ríos. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Araujo A. 2004. Prevalencia de *Giardia* en *Canis familiaris* de la provincia constitucional del callao. *Memoria de título*, EAP Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Barriga O. 2002. Infecciones por protozoos. En Germinal (ed). *Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina*. 1^a ed. Santiago, Chile, Pp 167 – 188.
- Bowman D. 2007. Parasites of dogs. In Baker D (ed). *Flynn's parasites of Laboratory Animals*. 2nd ed. Blackwell, Iowa, USA, Pp 509 – 513.
- Bowman D , A Lucio-Forster. 2010. Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: Veterinary and public health importance. *Exp parasitol* 124, 121 – 127.
- Bowman D. 2014. Protista. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. 10th ed. Elsevier, Missouri, USA, Pp 87 – 121.
- Celis N, A Chávez, F Suárez, N Falcón, V Fernández. 2015. Criptosporidiosis en Caninos Criados en Comunidades Campesinas de Puno, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 26, 266 – 272.
- DMC, Dirección Meteorológica de Chile. Chile. 2001. Climatología Regional. Pp 34

- Fayer R. 2008. General Biology. In: Fayer R, Xiao L (eds). *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. 2nd ed. CRC Press, New York, USA, Pp 1 – 35
- Funada MR, HFJ Pena, RM Soares, M Amaku, SM Gennari. 2007. Freqüência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos atendidos em hospital-escola veterinário da cidade de São Paulo. *Arq Bras Med Vet Zoo* 59, 1338 – 1340.
- Geurden T, E Claerebout. 2010. LaMann G (Ed), The relevance of giardia infections in veterinary medicine. *Veterinary Parasitology* Nova Science Publishers, New York, USA, Pp. 201-222
- Gorman T, A Soto, H Alcaíno. 2006. Parasitismo gastrointestinal en perros de comunas de Santiago de diferente nivel socioeconómico. *Parasitol Latinoam* 61, 126-132
- Gracenea M, M Gómez, J Torres. 2009. Prevalence of intestinal parasites in shelter dogs and cats in the metropolitan area of Barcelona (Spain). *Acta Parasitol* 54, 73-77.
- Hauenstein E, P Rutherford, M González. 2001. Determinación de la vegetación boscosa original y uso del suelo de Isla del Rey (Valdivia, Chile). *Gestión Ambiental*, 7, 49-63.
- Lee M, P Cadogan, S Eytile, S Copeland, J Walochnik, J Lindo. 2017. Molecular epidemiology and multilocus sequence analysis of potentially zoonotic *Giardia* spp. from humans and dogs in Jamaica. *Parasitol Res* 116, 409 – 414.
- Li W, Y Li, M Song, Y Lu, J Yang, W Tao, Y Jiang, Q Wan, S Zhang, L Xiao. 2015. Prevalence and genetic characteristics of *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon bienersi* and *Giardia duodenalis* in cats and dogs in Heilongjiang province, China. *Vet Parasitol* 208, 125 – 134.
- López J, K Abarca, P Paredes, E Inzunza. 2006. Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. *Rev Méd Chile* 134, 193-200.
- Morales G. 2011. Detección de *Cryptosporidium* spp. mediante tinción de Ziehl Neelsen y Auramina en heces de terneros diarreicos en predios lecheros de la provincia de Valdivia. *Memoria de título*. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile
- Muñoz P. 2014. Detección de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en perros con diarrea, provenientes de ocho clínicas veterinarias de la ciudad de Valdivia. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Osman M, J Bories, D El Safadi, M Poirel, N Gantois, S Benamrouz-Vanneste, L Delhaes, M Hugonnard, G Certad, L Zenner, E Viscogliosi. 2015. Prevalence and genetic diversity of the intestinal parasites *Blastocystis* sp. and *Cryptosporidium* spp. in household dogs in France and evaluation of zoonotic transmission risk. *Vet Parasitol* 214, 167 – 170.
- Pablo O, A Chávez, F Suárez, R Pinedo, N Falcón. 2012. *Giardia* spp en caninos y niños de comunidades campesinas de tres distritos de Puno, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 23, 462 – 468.

- Rodríguez E, F Manrique-Abril, M Púlido, J Ospina-Díaz. 2009. Frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en caninos de la ciudad de Tunja – Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 14, 1697-1704.
- Santín M, Trout JM 2008. Companion Animals: Criptosporidiosis in dogs. In Fayer R, Xiao L (eds) *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. 2nd ed. CRC Press, New York, USA, Pp 437 – 442.
- Scorza V, S Tangtrongsup. 2010. Update on the Diagnosis and Management of *Cryptosporidium* spp Infections in Dogs and Cats. *Top Companion Anim Med* 25, 163-169.
- Sotelo H, A Chávez, E Casas, R Pinedo, N Falcón. 2013. Giardiasis y Criptosporidiasis en caninos de los distritos del cono oeste de Lima metropolitana. *Rev Inv Vet Perú* 24, 353 – 359.
- Tangtrongsup S, V Scorza. 2010. Update on the Diagnosis and Management of *Giardia* spp Infections in Dogs and Cats. *Top Companion Anim Med* 25, 155–162.
- Taylor M, R Coop, R Wall. 2007. Parasites of dogs and cats: Parasites of the digestive system. *Veterinary parasitol*. 2th ed. Blackwell, Oxford, UK, Pp 942 – 946.
- Thompson R, C Palmer, R O’Handley. 2008. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Vet Journal* 177, 18 – 25
- Tortolero LJ, D Cazorla, P Moreno, M Acosta. 2008. Prevalencia de Enteroparásitos en Perros Domiciliadores de la Ciudad de la Vela, Estado Falcón, Venezuela. *Rev Cient (Maracaibo)* 18, 312 – 319.
- Troncoso C. 2017. Determinación de parásitos gastrointestinales en perros de la Isla del Rey, región de los Ríos, Chile. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Urra M. 2016. Nivel de conocimiento de hidatidosis en propietarios de perros de Isla del Rey. *Memoria de título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile.
- Vignau ML, LM Venturini, JR Romero, DF Eiras, WU Basso. 2005. Subreino Protozoa: giardiasis en perros y gatos En: Vignau ML (ed). *Parasitología Práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos*. 1^{era} ed. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, Pp 25 – 26.
- Zárate D, A Chávez, E Casas, N Falcón. 2003. Prevalencia de *Giardia* sp. en canes de los distritos del cono sur de lima metropolitana. *Rev Inv Vet Perú* 14, 134 – 139.

8. ANEXOS

8.1. Anexo 1

N°	Código	Sexo	Rango de edad (años)	Sector	Resultados	
					Ziehl Neelsen	Telemann
1	1	Macho	5 - 8,9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
2	3	Macho	>9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
3	4	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
4	5	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Positivo	Negativo
5	8	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
6	9	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Positivo
7	10	Macho	5 - 8,9	Las Coloradas	Positivo	Positivo
8	11	Macho	>9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
9	12	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Positivo	Negativo
10	13	Macho	>9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
11	15	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Positivo
12	16	Macho	<1	Las Coloradas	Negativo	Positivo
13	17	Hembra	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
14	19	Macho	>9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
15	21	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
16	23	Macho	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Positivo
17	24	Macho	>9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
18	26	Macho	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
19	27	Macho	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
20	28	Macho	<1	Carbonero	Negativo	Negativo
21	29	Hembra	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
22	30	Hembra	<1	Lo Venegas	Positivo	Positivo
23	31	Macho	5 - 8,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
24	32	Hembra	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
25	33	Macho	<1	Carbonero	Negativo	Negativo
26	34	Hembra	<1	Lo Venegas	Negativo	Negativo
27	35	Macho	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
28	36	Macho	1 - 4,9	Lo Venegas	Negativo	Negativo
29	37	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Positivo
30	38	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
31	39	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Positivo	Negativo
32	40	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
33	41	Macho	1 - 4,9	Las Coloradas	Negativo	Negativo
34	42	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
35	43	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo

36	45	Macho	<1	Carbonero	Positivo	Negativo
37	47	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Positivo	Positivo
38	48	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Positivo
39	50	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
40	51	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
41	52	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
42	53	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
43	54	Macho	<1	Carbonero	Negativo	Negativo
44	56	Macho	<1	Carbonero	Negativo	Positivo
45	57	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
46	58	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
47	59	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
48	60	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
49	61	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Positivo	Positivo
50	62	Macho	<1	Carbonero	Negativo	Negativo
51	67	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
52	68	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
53	69	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
54	70	Macho	>9	Carbonero	Negativo	Negativo
55	72	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
56	75	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
57	76	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
58	77	Hembra	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
59	78	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
60	79	Hembra	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
61	81	Macho	>9	Carbonero	Negativo	Negativo
62	82	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
63	83	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
64	84	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
65	85	Hembra	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
66	87	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Positivo	Negativo
67	88	Hembra	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
68	89	Hembra	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
69	90	Hembra	5 - 8,9	Isla centro	Negativo	Negativo
70	91	Hembra	5 - 8,9	Isla centro	Negativo	Negativo
71	92	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
72	93	Hembra	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
73	96	Macho	1 - 4,9	Carbonero	Negativo	Negativo
74	97	Macho	5 - 8,9	Carbonero	Negativo	Negativo
75	99	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
76	100	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
77	101	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
78	105	Macho	5 - 8,9	Isla centro	Positivo	Negativo
79	106	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
80	107	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
81	110	Macho	5 - 8,9	Isla centro	Negativo	Negativo

82	113	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
83	115	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Negativo	Negativo
84	119	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
85	120	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
86	121	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
87	124	Macho	>9	Isla centro	Negativo	Negativo
88	125	Hembra	5 - 8,9	Isla centro	Negativo	Negativo
89	126	Macho	1 - 4,9	Isla centro	Positivo	Negativo

8.2. Anexo 2

Animales positivos a <i>Giardia</i> spp.				
N°	Código	Muestreo		
		Día 1	Día 2	Día 3
1	009	SI	SI	
2	010	SI		
3	015		SI	SI
4	016		SI	SI
5	023	SI	SI	SI
6	030	SI	SI	SI
7	037	SI	SI	
8	047	SI	SI	
9	041			SI
10	048		SI	
11	056	SI		
12	061	SI		