



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

**PESQUISA DE *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia* spp. EN MAMÍFEROS
TERRESTRES DE UN ZOOLOGICO EN LA REGIÓN
METROPOLITANA DURANTE EL PERIODO 2013-2014**

Daniela Teresa Marccone Dapelo

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

PROFESOR GUÍA: FERNANDO FREDES
UNIVERSIDAD DE CHILE

SANTIAGO, CHILE
2015



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

**PESQUISA DE *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia* spp. EN MAMÍFEROS
TERRESTRES DE UN ZOOLÓGICO EN LA REGIÓN
METROPOLITANA DURANTE EL PERIODO 2013-2014**

Daniela Teresa Marcone Dapelo

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

NOTA FINAL:

FIRMA

PROFESOR GUÍA : FERNANDO FREDES MARTINEZ

PROFESOR CONSEJERO: GALIA RAMIREZ TOLOZA

PROFESOR CONSEJERO: CRISTÓBAL BRICEÑO URZÚA

SANTIAGO, CHILE

2015

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios por ser parte fundamental de mi vida, por haberme acompañado y apoyado durante estos 24 años, por haberme ayudado, guiado y sacado adelante cada vez que te necesitara. Gracias por tu amor infinito.

Gracias Sor Teresita de Los Andes, por ser parte tan intrínseca en mí desde pequeña, por ayudarme a ver a Cristo como mi mejor amigo, por acompañarme hasta en mis momentos de mayor soledad, y por nunca haberte rendido en mí.

Gracias a mi familia por acompañarme a lo largo de este proceso, aconsejarme, y enseñarme a poner siempre mi máximo esfuerzo. Gracias por demostrarme que estudiando y trabajando arduamente en lo que se desea, los sueños sí pueden volverse realidad.

Gracias a mis mascotas (en el cielo y en la tierra): Pistachito, Brownie, Hamy, Nuty y Morita, por motivarme día a día, recordarme que es todo por uds, y por animarme a seguir luchando por conseguir este logro, que es ser Médico Veterinario de animales exóticos.

Gracias a mis amigos, del colegio y de la Universidad, por aguantarme, quererme así tal cual soy y hacer todos estos años agradables y muy queridos. Definitivamente no sería la persona que soy hoy sin uds, y estos años no habrían sido lo mismo.

Gracias a todos los del laboratorio de Parasitología (profes, tesistas y Pato), por inculcarme un gran cariño con el área desde el año 2011, y por ayudarme desde un inicio, guiarme y explicarme sin dudar. Les tendré un cariño inmenso por siempre.

Finalmente, gracias a mi pololo por su apoyo incondicional, paciencia y cariño inmensurable. Gracias por tus críticas, tu ayuda, y tus retos. Gracias por ser tú, mi coso, y por quererme así como nunca pensé que alguien podría quererme.

A modo de conclusión, quiero decir que una página es muy poco para agradecer a tantos... Así que sólo quiero agradecer a todos los que conocí, a los que conozco y que conoceré, por hacerme ser quien soy, y por ayudarme a ser quien seré mañana.

Muchas gracias, de corazón.

Dany.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo pesquisar *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en mamíferos terrestres del Buin Zoo muestreados durante el período 2013-2014. Se realizó un muestreo censal estacional de recintos de ungulados, carnívoros y primates, obteniéndose un total de 204 muestras fecales, cada una correspondiente a un *pool* de heces obtenidas de tres días alternos; las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, mediante tinción de Ziehl-Neelsen modificado y Telemann modificado. 47 muestras fecales resultaron positivas a algún parásito (23,04%), siendo los carnívoros principalmente infectados (51,06%); y *Giardia* spp. mayormente encontrado (significativo en invierno y verano). Se encontró monoparasitismo en 91,49% de las muestras positivas y aquellas con ambos parásitos fueron sólo de carnívoros. Las variaciones estacionales encontradas para cada parásito no fueron estadísticamente significativas, pero al analizarse sin corrección de continuidad, se obtuvo como resultado que las muestras de ungulados y primates positivas a *Giardia* spp. fueron menos abundantes durante las estaciones frías que en verano. Esta es la primera descripción de *Cryptosporidium* spp. en leones africanos y tigres de bengala, así como también de *Giardia* spp. en pudúes, nyalas, jirafas, suricatas y monos tití cabeza algodón. Se concluye que hubo presencia de estos agentes parasitarios en el zoológico durante todo el periodo 2013-2014, lo que es relevante debido al posible riesgo zoonótico que conlleva, recomendándose así la implementación de un programa de control y prevención, con énfasis en vías de transmisión parasitaria.

Palabras clave: Zoológico, zoonosis, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., Telemann modificado, Ziehl-Neelsen modificado, mamíferos terrestres.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the presence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. on terrestrial mammals from the Buin Zoo, from 2013-2014. A seasonal sampling was carried out from all animal enclosures, corresponding to ungulates, carnivores and primates. Two hundred and four faecal samples were collected, each corresponding to an individual pool of faeces sampled in three alternate days, which were processed with acid-fast and Telemann stains, at the Parasitology Laboratory of the Veterinary Sciences Faculty from the University of Chile. Forty seven faecal samples were positive to one parasite (23.04%), being carnivores the most infected (51.06%) while *Giardia* spp. was the mostly found (significant in winter and summer). Monoparasitism was found in 91.49% of the positive samples, and those with both parasites were only found in carnivores. The seasonal variation found on each parasite was not statistically significant, but when analysing without Yates' correction, the ungulates and primates positive to *Giardia* spp., turned out to be less abundant during cold seasons than in summer. This is the first description of *Cryptosporidium* spp. in African lions and tigers; and of *Giardia* spp. in pudus, nyalas, giraffes, meerkats and cotton-top tamarins. It is concluded that there was parasitic presence in the zoo during 2013-2014, which is relevant due to the zoonotic risk it implies. An implementation of a control and prevention program, with emphasis in the parasitic transmission ways, was recommended.

Key words: Zoo, zoonoses, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., acid-fast stain, Telemann stain, terrestrial mammals.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, han existido en el mundo colecciones de plantas y animales como entretenimiento de la nobleza. A finales del siglo XVI e inicios del XVII, éstas alcanzaron su auge en Europa; para recién existir en el continente americano a principios del siglo XX, cuyo propósito consistía en mostrar a los visitantes los animales exóticos, con la mayor seguridad posible. Hacia la década del 60', los zoológicos se consideran como un centro no sólo de exhibición de animales silvestres, sino que como uno de recreación, educación, conservación e investigación, siendo considerados hoy en día, como una de las principales esperanzas para el futuro de la conservación de la biodiversidad del planeta (Babb, 2002).

Dentro del objetivo de investigación de los zoológicos, es que existe un creciente interés por conocer el riesgo de infección con agentes transmisibles que presentan los animales de estos parques, pues la gran concentración de especies en un espacio restringido, el estrés por el cautiverio en que se encuentran y el constante contacto con el ser humano, predispone a la diseminación de agentes infecciosos (Ludwig y Marques, 2011).

En los zoológicos, la salud y el bienestar del animal cautivo dependen tanto de su manejo y cuidado médico, como del diseño de su recinto. Actualmente, la tendencia de reproducir los hábitats naturales en los parques zoológicos, reemplazando los pisos de concreto por tierra y colocando la comida en lugares naturales (en la tierra, árboles, etc.), para incentivar los comportamientos de búsqueda de alimento, han facilitado la contaminación fecal y dificultado la desinfección de los ambientes, provocando que los recintos sean aptos para la supervivencia y transmisión de fauna parasitaria (Berrilli *et al.*, 2011).

Las parasitosis son uno de los mayores problemas de los zoológicos, llevando incluso a la muerte de los animales en cautiverio (Opara *et al.*, 2010). Además, cabe destacar que factores climáticos, como luz, temperatura y humedad, determinan la dispersión y persistencia de los parásitos en el ambiente; y que el tipo de manejo, el estado nutricional, la profilaxis y el tratamiento otorgado pueden provocar variaciones en el impacto de estos agentes en los animales de zoológico (Lim *et al.*, 2008). En consecuencia, la mantención de animales silvestres en cautiverio dentro de recintos zoológicos, puede aumentar las infecciones parasitarias y ser un problema para la salud de especies en peligro del parque,

causando disminuciones ocasionales de su población (Lim *et al.*, 2008; Ludwig y Marques, 2011).

Las parasitosis adquieren además, importancia desde un punto de vista de Salud Pública, pues algunos agentes parasitarios poseen un alto riesgo zoonótico (Berrilli *et al.*, 2011). Las zoonosis están definidas según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014) como enfermedades infecciosas que pueden transmitirse naturalmente entre el ser humano y los animales vertebrados, representando un desafío importante a la Salud Pública.

A la fecha, se han descrito 1.407 especies de agentes patógenos para el ser humano, divididos entre virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos. De estos, 58% son agentes zoonóticos, donde los ungulados poseen la mayor cantidad de agentes (más de 250 especies); seguido de carnívoros y primates (García, 2008). Sin embargo, el ser humano también puede ser una amenaza para la conservación animal, ya que se ha descrito que la introducción humana de patógenos es la causa más frecuente de emergencia de enfermedades infecciosas en fauna silvestre (Greger, 2007). De esta manera, sumado al riesgo de transmisión de microorganismos zoonóticos existente debido al estrecho contacto que puede darse entre las personas y los animales en diversas actividades educativas de los parques (demostraciones en vivo y actividades de granja), es que los animales infectados en zoológicos constituyen un riesgo de infección para otros animales, cuidadores, médicos veterinarios y visitantes de estos parques zoológicos (Lim *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2008; Berrilli *et al.*, 2011; Ludwig y Marques, 2011).

Dentro de los parásitos de relevancia para las instituciones zoológicas, se encuentran los protozoos *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp., pues desde un punto de vista de salud pública, tienen un alto riesgo zoonótico, encontrándose entre los parásitos intestinales más comunes del mundo (Veronesi *et al.*, 2010; Berrilli *et al.*, 2011; Varela y Rojas, 2013). Ambos protozoos además, poseen una amplia variedad de hospederos, producen signos clínicos similares y comparten rutas de transmisión similares. A su vez, se ha demostrado que pueden existir co-infecciones en un mismo hospedero (Mark-Carew *et al.*, 2010).

***Cryptosporidium* spp.**

Todas las especies del género *Cryptosporidium* son parásitos intracelulares obligados que se transmiten de manera fecal-oral, a través de la ingesta de agua y comida infectada con

ooquistes, los que son resistentes al medio ambiente y la temperatura. Sin embargo, se ha descrito que su viabilidad es menor cuando esta última es alta (Gracenea *et al.*, 2002; Quadros *et al.*, 2006; Ludwig y Marques, 2011; Shahiduzzaman y Dauschies, 2012).

Este parásito es el agente causal de la criptosporidiosis, una parasitosis gastrointestinal cosmopolita, que puede infectar el epitelio intestinal o el tracto respiratorio de cinco grupos de vertebrados (peces, reptiles, aves, anfibios y mamíferos) (Fayer, 2004; Alves *et al.*, 2005; Ludwig y Marques, 2011), cuya signología más frecuente es la diarrea, dolor abdominal, náuseas y fiebre, pudiendo ser fatal en individuos inmunocomprometidos y asintomática en inmunocompetentes (Appelbee *et al.*, 2005; Quadros *et al.*, 2006; Levecke *et al.*, 2007; Gonçalves *et al.*, 2008; Shahiduzzaman y Dauschies, 2012).

Dentro de los factores de riesgo de esta parasitosis, se encuentran el estado inmunológico, la edad, y las condiciones medioambientales (Quadros *et al.*, 2006). Por ejemplo, en Chile, en seres humanos, se presenta con mayor frecuencia en otoño-invierno, y posee una distribución geográfica no homogénea, siendo mayor en la zona norte del país (Neira, 2005).

***Giardia* spp.**

Es un protozoo flagelado binucleado, considerado el parásito gastrointestinal más común en los animales, con un gran potencial zoonótico debido al amplio rango de hospederos que parasita (Varela y Rojas, 2013). A su vez, la simpleza de su ciclo vital, su baja dosis infectante, y su corto periodo de prepatencia, facilita su dispersión entre los animales cautivos una vez ingresados a sus exhibidores (Berrilli *et al.*, 2011).

Este parásito es el agente causal de giardiasis, una enfermedad con alta prevalencia alrededor del mundo, afectando aproximadamente 200 millones de personas, con una incidencia de 500.000 casos nuevos anuales (Molina *et al.*, 2006; Xiao y Fayer, 2008).

Giardia spp. presenta dos formas: trofozoíto, responsable de la sintomatología de giardiasis; y quiste, la forma infectante, viable por dos a tres meses en ambientes hostiles en superficies de agua o barro, mientras que en tierra no sobreviven a temperaturas bajas extremas (Fialho *et al.*, 2008; Varela y Rojas, 2013). La vía de contagio es fecal-oral, mediante la ingesta de agua o alimento contaminado con quistes del parásito, que al

desenquistarse colonizan el intestino delgado y se adhieren al epitelio intestinal (Mark-Carew *et al.*, 2010; Beck *et al.*, 2011; Varela y Rojas, 2013).

Está descrito que la enfermedad es asintomática para su hospedero, pero que en ciertas ocasiones puede adquirir virulencia, siendo la edad, el estado inmunológico y las condiciones medioambientales factores de riesgo para esta parasitosis. La giardiasis puede presentar signos clínicos de diarrea aguda o crónica, dolor abdominal, vómito, náusea, pérdida de peso y/o retardo en el desarrollo y crecimiento (Fialho *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2012).

Diagnóstico parasitario

Para un correcto diagnóstico de estos protozoos, se requieren exámenes coproparasitarios, donde se analizan muestras fecales microscópicamente para detectar sus ooquistes/quistes. Sin embargo, la sensibilidad de este análisis para *Giardia* spp., es de un 50-70%, pues se libera de forma intermitente del hospedero, justificando la importancia de la toma de muestras de tipo seriado (Gutiérrez *et al.*, 2005; Varela y Rojas, 2013).

De esta manera, es primordial realizar estudios longitudinales de la fauna endoparasitaria presente en los recintos, para poder establecer un perfil de los parásitos gastrointestinales en los animales del zoológico según estación del año. De esta forma, se podrán desarrollar programas de control rutinarios basados en correctos diagnósticos, tratamientos y profilaxis adecuadas, para ayudar a revertir y mantener bajo control las situaciones de salud, tanto en los animales de zoológico, como en los seres humanos (Gracenea *et al.*, 2002; Opara *et al.*, 2010).

Por lo anterior, la presente memoria tuvo como objetivo pesquisar *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo muestreados durante el período 2013-2014, para lo cual se describieron y compararon las proporciones de infección obtenidas según Superorden/Orden animal, estación del año y sector del Zoológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Esta Memoria de Título se efectuó dentro del marco del proyecto del Parque Zoológico Buin Zoo, "Zoológicos como centinelas para el manejo sanitario de animales silvestres en Chile", y se realizó con muestras fecales de animales pertenecientes a este. El zoológico se encuentra ubicado en Panamericana Sur kilómetro 32, comuna de Buin, Región Metropolitana (33°42'54"S 70°43'37"O). Actualmente, el parque cuenta con 12 hectáreas, dentro de las cuales se distribuyen 2.000 animales de 250 especies, perteneciendo a mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces e invertebrados.

Clima de la Región

La Región Metropolitana consta de un clima de tipo mediterráneo, con temperaturas que llegan a un promedio anual de 14°C, con una media invernal de 9°C, estival de 23°C; y, una humedad relativa promedio de 70%. La comuna de Buin se ubica en la macrozona climática llamada Valle Central Interior, presentando así, diversos valores normales por estación de estas variables climáticas (Tabla Nro. 1).

Tabla Nro. 1. Valores normales (promedio histórico) de las principales variables climáticas de la comuna de Buin, según estación del año (Santibáñez, 2012).

Variables climáticas	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
T. máxima (°C)	24,6	28,5	21,5	14,5
T. mínima (°C)	9,5	11	5,2	3
Humedad relativa (%)	73	70	81	85

Población de estudio y muestreo

Para propósitos de esta Memoria de Título, se utilizaron muestras fecales de todos los recintos de animales del Superorden Ungulata y de los Órdenes Carnívora y Primates del Parque Zoológico Buin Zoo, las cuales fueron obtenidas con anterioridad mediante un muestreo seriado (cuatro estaciones en el periodo 2013-2014) realizado por funcionarios del zoológico. La mayoría de estas especies viven en recintos que constan de un exhibidor

al aire libre y un dormitorio bajo techo. Sin embargo, algunas especies de carnívoros habitan en el “Nocturama”, donde tanto el exhibidor como dormitorio se encuentra bajo techo y cuya temperatura es regulada por el parque sólo durante otoño e invierno (23°C), permaneciendo ambiental durante primavera y verano.

El muestreo censal realizado, consistió en la toma de muestras en tres días alternos, de manera estacional (invierno-verano-otoño-primavera), para poder verificar si existe alguna variación en las tasas de infección parasitaria de los animales.

Se muestrearon en total 18 recintos de ungulados, 20 de carnívoros y 13 de primates; estando cada muestra conformada por un *pool* de las heces recolectadas. El total de muestras fecales a analizar y obtenidas en las cuatro estaciones del año fue de 72 de ungulados, 80 de carnívoros y 52 de primates; es decir, 204 muestras en total.

Toma de muestras e identificación

Cada muestreo fue realizado a primera hora de la mañana, previo al aseo de los recintos, por los cuidadores o encargados de sector correspondiente, recolectando aproximadamente 5 gr de heces desde el suelo, cuidando que no hubieran tenido contacto con sustancias contaminantes del mismo o del ambiente. Luego de esto, fueron colocadas en tubos cónicos (tipo Falcon) de 50 mL, con etanol al 70% y almacenadas a una temperatura de 4°C, para posteriormente ser trasladadas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile para su análisis. Cada tubo fue rotulado con el nombre común de la especie animal en el recinto y posteriormente con un código que lo identifique.

Análisis microscópico

Las muestras se analizaron a través de un examen coproparasitario Ziehl-Neelsen modificado y Telemann modificado, que permitieron pesquisar ooquistes de *Cryptosporidium* o quistes de *Giardia*, respectivamente.

Para el procesamiento y análisis de las muestras se necesitaron: guantes desechables, bandejas, frascos plásticos, tubos tipo Falcon de 50 y 15 mL, cubre y portaobjetos, gotarios, pinzas, etanol 70%, éter (99,9%), tinción Ziehl-Neelsen modificado (fucsina, azul de

metileno y alcohol ácido), tinción MIF (Merthiolate, yodo y formalina), muestras de excrementos, una centrífuga y un microscopio óptico con objetivos de 10x, 40x y 100x.

Mediante estos métodos se buscó describir si los recintos de mamíferos terrestres del Buin Zoo presentan los géneros protozoarios indicados, sin poder identificar especie. Debido a esto, cada muestra positiva encontrada se mantuvo en etanol 70% para su posterior estudio con técnicas de biología molecular.

Técnica de Ziehl-Neelsen modificada (Henricksen y Pohlenz, 1981).

Esta técnica se utilizó para detectar la presencia de *Cryptosporidium* spp. Primero, se centrifugó cada muestra a 1.500 x g por 10 minutos, se retiró el sobrenadante y obtuvo aproximadamente 0,5 mL de sedimento con una tórula para extender en un portaobjeto, el que se dejó secar durante 20 minutos, para ser luego depositado en una gradilla, y teñido, usando la tinción Ziehl-Neelsen modificado. Para esto, se cubrió cada portaobjeto con fucsina básica; para luego ser calentado utilizando un algodón con alcohol encendido, el cual se pasó por debajo de los cubreobjetos, hasta que se observó una emanación de vapor. Una vez alcanzado esto, la tinción se dejó actuar por 20 minutos, para luego lavar y eliminar todo exceso de colorante. Las muestras fueron entonces cubiertas nuevamente, esta vez con alcohol ácido por 30 segundos, y lavadas para eliminar su exceso. Una vez realizado esto, se colocó azul de metileno sobre los portaobjetos; y pasados 5 min, se lavaron con agua corriente hasta eliminar los excesos de colorante. Finalmente, los portaobjetos se dejaron secar a temperatura ambiente, para luego ser observados al microscopio óptico con objetivo de inmersión 100x.

Técnica de Telemann modificado (Atías, 1998).

Mediante esta técnica, se detectó la presencia de quistes de *Giardia* spp y otros agentes parasitarios del tipo helminto o protozoo. Para esto, las muestras fueron primero tamizadas, utilizando una malla metálica. Luego, se vertieron 10 mL de la solución fecal tamizada a un tubo tipo Falcon de 15 mL, para posteriormente adicionar 2 mL de éter etílico (99,9%) y centrifugar a 350 x g durante 5 minutos. Finalizada la centrifugación, el sobrenadante fue eliminado con un golpe seco, y se colectaron 100 µL del sedimento, que fueron extendidos sobre un portaobjetos. Entonces, se aplicaron 50 µL de tinción MIF preparada con antelación, constituida de 0,1 mL de lugol, 0,15 mL de formaldehído y 0,75 mL de

Merthiolate al 1:1000. Finalmente, se colocó un cubreobjetos sobre las muestras, para examinarlas más tarde con un microscopio óptico, usando objetivos de 10x y 40x, pudiendo también ser evaluadas en fresco, sin tinción MIF.

Análisis de Resultados

Para el análisis descriptivo, los resultados fueron presentados a través de tablas de proporción de infección de ambos protozoos zoonóticos encontrados (*Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp.), según Superorden/Orden, estación del año y sector del zoológico.

Para el análisis estadístico, se realizó la prueba no paramétrica de independencia de hipótesis Chi cuadrado para determinar si existe relación entre grupos animales de un mismo Superorden/Orden, pero distinta ubicación en el parque; la prueba Q de Cochran para establecer si existe algún cambio significativo en las proporciones de infección dentro de un grupo animal en las diversas estaciones del año; y, el test de McNemar, para determinar de manera más específica, entre cuáles estaciones se encontraron las diferencias en las proporciones de infección de estos animales.

RESULTADOS

Todas las muestras fecales recolectadas tenían una consistencia normal para la especie y además, se informó que ningún recinto presentaba animales con signos clínicos de enteroparasitismo al momento del muestreo. Otro antecedente relevante es que durante el periodo 2013-2014, no se realizaron tratamientos antiparasitarios a los animales del parque.

En el presente estudio se obtuvo un total de 204 muestras, de las cuales 47 (23,04%) resultaron positivas a alguno de los dos protozoos pesquisados (Figura Nro. 1).

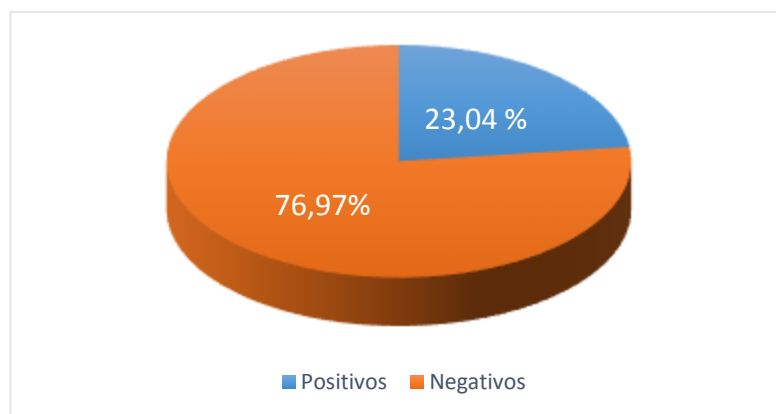


Figura Nro. 1. Porcentajes de muestras fecales positivas y negativas a *Cryptosporidium* spp. y/o *Giardia* spp., de mamíferos terrestres (ungulados, carnívoros y primates) del Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013-2014.

De las 47 muestras positivas, 18 correspondieron a ungulados (38,29%), 24 a carnívoros (51,06%) y 5 a primates (10,63%) (Figura Nro. 2).

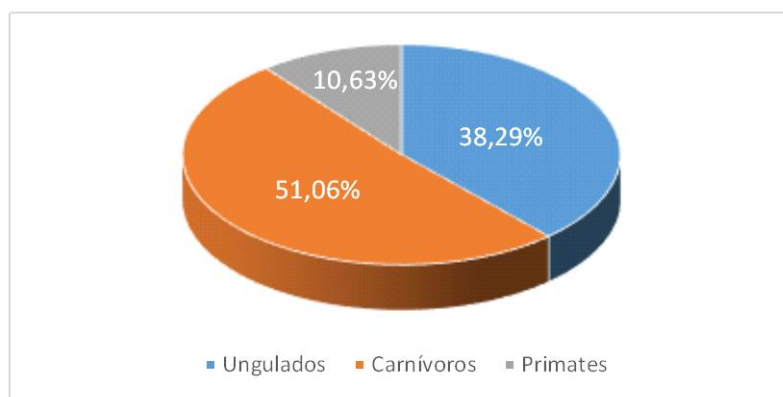


Figura Nro. 2. Porcentajes de muestras fecales positivas a *Cryptosporidium* spp y/o *Giardia* spp. según Superorden/Orden animal, en el Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013-2014.

Las proporciones de infección de muestras positivas a alguno de estos parásitos, para los grupos animales evaluados, según estación del año (en el orden de muestreo), se pueden observar en la Tabla Nro. 2.

Tabla Nro. 2. Proporciones de infección a *Cryptosporidium* spp. y/o *Giardia* spp. en muestras fecales de mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo, según Superorden/Orden animal y estación del año.

Superorden/ Orden	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Ungulados	33,33% (6/18)	44,44% (8/18)	11,11% (2/18)	11,11% (2/18)
Carnívoros	55% (11/20)	15% (3/20)	25% (5/20)	25% (5/20)
Primates	0% (0/13)	30,7% (4/13)	0% (0/13)	7,69% (1/13)

De las 47 muestras positivas, un 23,4% de ellas lo fueron a *Cryptosporidium* spp. (11/47), en tanto que un 76,6% sólo a *Giardia* spp. (36/47), diferencia que fue estadísticamente significativa sólo en las estaciones de invierno y verano ($p < 0,05$) (Anexos Nro. 1-4).

En consiguiente, es importante describir y comparar tanto la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. como de quistes de *Giardia* spp. por separado, de manera general y específica según Superorden/Orden, sector del zoológico y estación del año. En los Anexos Nro. 5-7 se pueden apreciar las muestras positivas a ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en ungulados, carnívoros y primates, respectivamente. Mientras que en los Anexos Nro. 8-10, aquellas positivas a quistes de *Giardia* spp.

De las 204 muestras totales, 11 resultaron positivas a ooquistes de *Cryptosporidium* spp., representando un 5,93% del total, correspondientes a cuatro de ungulados (36,36%) y siete de carnívoros (63,64%) (Figura Nro. 3).

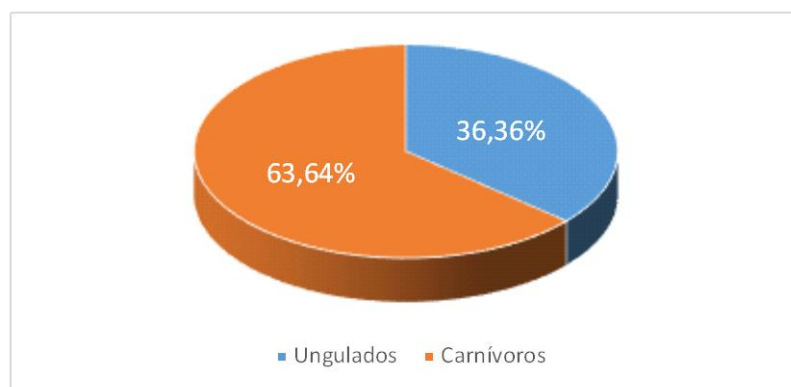


Figura Nro. 3. Porcentajes de muestras fecales positivas a *Cryptosporidium* spp. según Superorden/Orden, en el Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013-2014.

Las proporciones de infección de este protozoo según Superorden (Ungulata) y Orden animal (Carnivora), estación del año y sector interno del parque, se pueden observar en las tablas Nro. 3 y 4.

Tabla Nro. 3. Proporciones de infección a *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo, según estación del año y sector interno del zoo.

Ungulados	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I	0% (0/9)	0% (0/9)	11,11% (1/9)	0% (0/9)
Sector II	0% (0/9)	22,22% (2/9)	0% (0/9)	11,11% (1/9)
Proporción de infección por estación y Superorden	0% (0/18)	11,11% (2/18)	5,56 % (1/18)	5,56% (1/18)

Tabla Nro. 4. Proporciones de infección de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de carnívoros del Parque Zoológico Buin Zoo, según estación del año y sector interno del zoo.

Carnívoros	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I	12,5% (1/8)	0% (0/8)	12,5% (1/8)	12,5% (1/8)
Sector II	33,33% (2/6)	0% (0/6)	16,67% (1/6)	0% (0/6)
Sector III	16,67% (1/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/6)
Proporción de infección por estación y Orden	20% (4/20)	0% (0/20)	10% (2/20)	5,5% (1/20)

Por otra parte, de las 204 muestras totales, 36 resultaron positivas a quistes de *Giardia* spp., representando un 17,65% del total de muestras, correspondientes a 14 de ungulados (38,89%), 17 de carnívoros (47,22%) y cinco de primates (13,89%) (Figura Nro. 4).

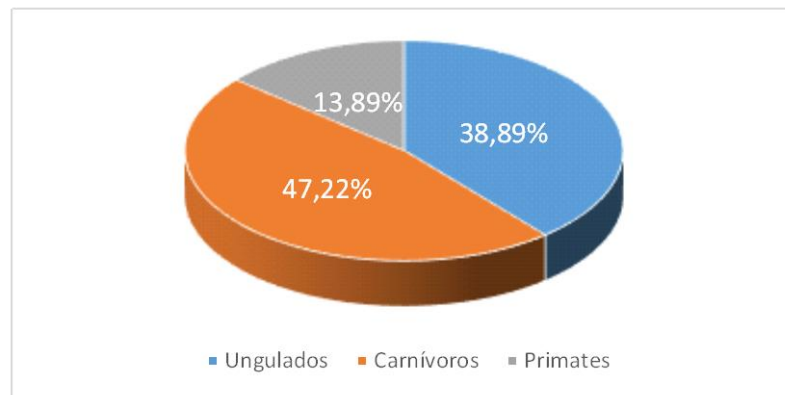


Figura Nro. 4. Porcentajes de muestras fecales positivas a *Giardia* spp. según Superorden/Orden en el Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013-2014.

De igual modo, las proporciones de infección de este protozoo según Superorden/Orden animal, estación del año y sector interno del parque, se pueden observar en las tablas Nro. 5-7.

Tabla Nro. 5. Proporciones de infección de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo, según estación del año y sector interno del parque.

Ungulados	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I	22,22% (2/9)	22,22% (2/9)	0% (0/9)	0% (0/9)
Sector II	44,44% (4/9)	44,44% (4/9)	11,11% (1/9)	11,11% (1/9)
Proporción de infección por estación y Superorden	33,33% (6/18)	33,33% (6/18)	5,56 % (1/18)	5,56% (1/18)

Tabla Nro. 6. Proporciones de infección de *Giardia* spp. en muestras fecales de carnívoros del Parque Zoológico Buin Zoo, según estación del año y sector interno del parque.

Carnívoros	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I	50% (4/8)	12,5% (1/8)	25% (2/8)	25% (2/8)
Sector II	33,33% (2/6)	16,67% (1/6)	0% (0/6)	33,33% (2/6)
Sector III	16,67% (1/6)	16,67% (1/6)	16,67% (1/6)	0% (0/6)
Proporción de infección por estación y Orden	35% (7/20)	15% (3/20)	15% (3/20)	20% (4/20)

Tabla Nro. 7. Proporciones de infección de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Parque Zoológico Buin Zoo, según estación del año y sector interno del parque.

Primates	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I	0% (0/10)	40% (4/10)	0% (0/10)	10% (1/10)
Sector II	0% (0/3)	0% (0/3)	0% (0/3)	0% (0/3)
Proporción de infección por estación y Orden	0% (0/13)	30,7% (4/13)	0% (0/13)	7,69% (1/13)

Además, es importante destacar que del total de muestras positivas, 91,49% (43/47) de ellas tuvieron monoparasitismo, mientras que en el 8,51% (4/47) de ellas se observaron ambos parásitos (Figura Nro. 5). Los animales que presentaron esto último pertenecieron sólo al Orden Carnívora, y fueron lobos de crin (*Chrysocyon brachyurus*), leones africanos (*Panthera leo*), ocelotes (*Leopardus pardalis*) y zorros rojos (*Vulpes vulpes*). En el caso de los tres primeros, el poliparasitismo se presentó en invierno; mientras que, en el zorro rojo, ocurrió en otoño.

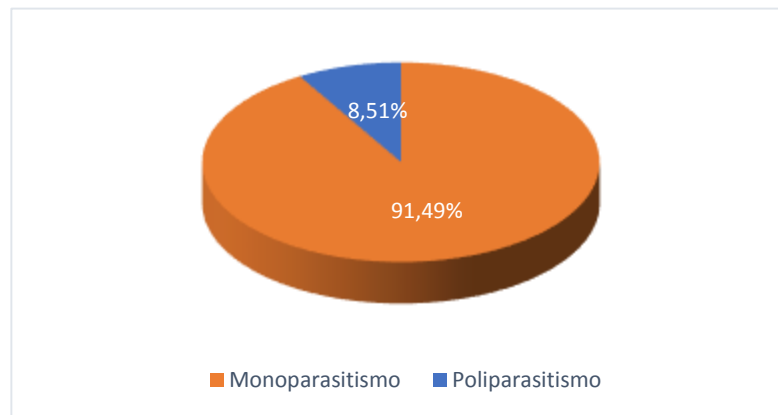


Figura Nro. 5. Porcentajes de muestras fecales de mamíferos terrestres (ungulados, carnívoros y primates) que presentaron monoparasitismo o poliparasitismo en el Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013-2014.

La prueba de independencia de hipótesis Chi cuadrado entre grupos animales de un mismo Superorden/Orden, pero diferente ubicación, arrojó como resultado que en el parque no

existe una asociación significativa entre estos, siendo todos los valores de $p > 0,05$ (Anexos Nro. 11-28).

Analizando con la prueba Q de Cochran las diferencias en las proporciones de infección de *Cryptosporidium* spp. dentro de un grupo animal en las diversas estaciones del año, se determinó que las variaciones existentes en los ungulados y aquellas de los carnívoros no lograron una significancia estadística, siendo los valores de $p > 0,05$ ($\chi^2_{QU} = 2,4$; $\chi^2_{QC} = 5$).

Al analizar mediante la prueba Q de Cochran las diferencias en los porcentajes de muestras positivas a *Giardia* spp. dentro de un grupo animal en las diversas estaciones del año, se determinó que este varió de manera significativa para los ungulados y primates con valores de $p < 0,05$ ($\chi^2_{QU} = 8,8$; $\chi^2_{QP} = 8,6$), y no significativa para los carnívoros, con $p > 0,05$ ($\chi^2_{QC} = 3,5$).

De este modo, se procedió a realizar el test de McNemar entre las distintas proporciones de infección a *Giardia* spp. de los ungulados y primates, a lo largo del año evaluado. Por lo tanto, se analizaron los siguientes pares estacionales: invierno-verano, invierno-otoño, invierno-primavera, otoño-verano, otoño-primavera y, verano-primavera (Anexos Nro. 29-37) para cada Orden animal, y se observó que ninguno logró tener un resultado estadísticamente significativo al ser sometido a la corrección de Yates, corrección necesaria debido al pequeño tamaño muestral. Sin embargo, al calcular los valores del estadígrafo McNemar sin esta corrección de continuidad, se obtuvo como resultado que las muestras de ungulados positivas a quistes de *Giardia* spp. fueron estadísticamente menos abundantes durante otoño (1) que en verano (6) ($\chi^2 = 5$, $p = 0,025$) (Anexo Nro. 32), y que las muestras de primates positivas al mismo parásito fueron estadísticamente más abundantes durante verano (4), al compararse con invierno (0) y otoño (0) ($\chi^2 = 4$, $p = 0,046$) (Anexo Nro. 34).

DISCUSIÓN

La presente memoria de título permitió pesquisar y detectar los elementos de resistencia de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en las heces de recintos animales de ungulados, carnívoros y primates ubicados en diferentes sectores del Parque Zoológico Buin Zoo, durante el periodo 2013 y 2014; como también describir y comparar las proporciones de

infección obtenidas según Superorden/Orden, estación del año y sector del zoológico, siendo así, el primer registro de estos protozoos en un zoológico de Chile de manera longitudinal por cuatro estaciones.

En el presente estudio, un 23,05% de las muestras resultaron positivas a la presencia de alguno de los protozoos pesquisados, afectando a todos los animales muestreados. Esto se asemeja a los resultados de otras investigaciones realizadas en zoológicos del mundo, donde se encontraron prevalencias de protozoos de 21,8% y 17,8% en un parque zoológico de Malasia y de Nigeria, respectivamente (Lim *et al.*, 2008; Opara *et al.*, 2010). Sin embargo, es importante mencionar que estos resultados no sólo incluyen a *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. sino que también a otros agentes protozoarios, pudiendo entonces presentar menores proporciones de infección a los pesquisados en el presente trabajo; y, que estos estudios fueron de carácter transversal, a diferencia de la presente memoria de título, la cual fue longitudinal.

La mayor positividad en el presente estudio la obtuvo el Orden Carnívora (47,22%), seguido por Ungulata (38,89%), y finalmente por Primates (13,89%). Esta distribución de porcentajes está descrita en estudios realizados en zoológicos que incluyen tanto helmintos como protozoos en los resultados, y es obtenida debido a que las infecciones por helmintos y el poliparasitismo (helmintos y protozoos) son más comunes en el grupo de los carnívoros, al compararse con ungulados y primates, siendo estos últimos usualmente más afectados por protozoos (Levecke *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2008; Darabus *et al.*, 2014). De manera que existen múltiples razones por las cuales se pudo haber obtenido una mayor positividad en el Orden Carnívora respecto al resto de los otros grupos en esta memoria de título, siendo importante considerar factores propios del Buin Zoo que predisponen a la presentación de infección parasitaria en los animales. Entre estos, el punto probablemente más relevante corresponde a las fuentes de agua otorgadas en los bebederos de los diversos recintos animales, pues el agua es un importante vehículo para la transmisión y diseminación de los protozoos evaluados en el presente estudio (Quadros *et al.*, 2006). Así por ejemplo, en el parque se les otorga agua no sanitizada (pozo) a los carnívoros (exceptuando jaguares) y ungulados, mientras que los primates sólo disponen de agua

potable, lo que podría explicar en parte, a su vez, la baja proporción de infección parasitaria de éstos al compararse con los animales de los demás grupos.

Otro factor importante a considerar son las particularidades físicas de cada recinto, como el tipo de suelo y la presencia o ausencia de techo. Las mayores proporciones de infección obtenidas en los carnívoros y ungulados pueden deberse a que la mayoría de sus recintos cuentan con piso de tierra, lo que permite una mayor posibilidad de infección, pues podría proteger a los parásitos de los rayos solares e impide la realización de una limpieza profunda diaria y/o semanal. Además, estos recintos poseen dormitorios con camas calientes y paja, material que permite la generación de calor húmedo que favorece la sobrevivencia parasitaria (Darabus *et al.*, 2014) y, no cuentan con un techo que los proteja del ingreso de hospederos paraténicos o de sus deyecciones. Por el contrario, la menor proporción de infección parasitaria obtenida por los primates puede también deberse a que la mayoría de sus recintos tienen techo, piso de cemento, están rodeados con reja y/o vidrio, y tienen dormitorios con camas calientes sin paja, lo que permite mantener un calor seco. Además, otro punto a destacar consiste en los diversos manejos de los alimentos que se realizan en este parque, ya que tanto la preparación como su forma de entrega (enriquecimientos) a los carnívoros, por su manipulación, pueden predisponer a un mayor riesgo de contaminación parasitaria (Darabus *et al.*, 2014). A su vez, es relevante considerar los movimientos de entrada y salida de los animales en el periodo muestreado (en caso que hubiere), pero a pesar de contar con dicha información, esta no pudo analizarse de manera correcta, debido a que las muestras colectadas representaban a los recintos y no a los individuos. Así también, es de importancia conocer las distintas densidades poblacionales por recinto (Appelbee 2005; Darabus *et al.*, 2014), información que no fue entregada por el zoológico dado su carácter confidencial.

En el presente estudio, hubo una mayor positividad a *Giardia* spp. (17,65%) que a *Cryptosporidium* spp. (5,93%), la que fue estadísticamente significativa sólo en las estaciones de invierno y verano ($p < 0,05$). Está descrito en la literatura que la positividad a *Giardia* spp. en animales de zoológicos suele ser mayor a la de *Cryptosporidium* spp., lo que puede explicarse debido a que los animales de las colecciones zoológicas son en su mayoría adultos, siendo mayormente infectados por *Giardia* spp., mientras que

Cryptosporidium spp. infecta usualmente a animales jóvenes y neonatos (Opara et al., 2010). Así por ejemplo, en un estudio realizado en el zoológico de Antwerp, Bélgica, se obtuvieron prevalencias de 8,9% a *Giardia* spp. y 7,5% a *Cryptosporidium* spp. (Stancheva, 2013). Esta diferencia de proporciones de infección ocurre en la mayoría de los estudios revisados, exceptuando uno realizado en el zoológico de Almuñecar, España, donde sin explicación reportan que no hubo presencia de *Giardia* spp., pero sí una baja prevalencia de *Cryptosporidium* spp. (Pérez et al., 2008). A su vez, en este mismo estudio el poliparasitismo fue común, siendo el 70% de los animales infectados al menos por dos parásitos (máximo 6). Estas infecciones múltiples usualmente ocurren entre protozoos y helmintos, siendo poco frecuentes aquellas entre protozoos (Lim et al., 2008; Mark-Carew et al., 2010). Por ejemplo, en un estudio hecho en equinos en granjas de Italia, la co-infección de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. se encontró en un 2% de los casos (Veronesi et al., 2010). Esta información se condice con lo hallado en esta memoria, donde el monoparasitismo (91,49%) fue mucho mayor que el poliparasitismo (8,51%).

El poliparasitismo en el presente estudio sólo se presentó en las estaciones frías del año (invierno y otoño), y en recintos pertenecientes al Orden Carnívora. Cabe destacar que ninguno de estos recintos sufrió modificaciones en el número de animales durante el periodo de muestreo (ingresos o salidas), por lo que la mayor presencia parasitaria en este grupo pudo haberse debido a otras condiciones de riesgo ya discutidas con anterioridad. A su vez, que este poliparasitismo ocurriera durante las estaciones frías del año, tiene relación con que tanto *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp. presentan una mayor excreción durante aquellas fechas (Gracenea et al., 2002; Neira, 2005; Varela y Rojas, 2013).

En la presente memoria de título, se encontró una frecuencia de *Cryptosporidium* spp. de 5,93% en ungulados y carnívoros, cifra que puede ser similar a aquella encontrada en un zoológico de Lisboa, donde un 4% de los animales presentaron el parásito, siendo positivos sólo los ungulados del parque (Alves et al., 2005) y, a aquella hallada en el zoológico de Almuñecar, España, donde un 3,2% de los animales presentó este protozoo (Pérez et al., 2008). Sin embargo, es menor a la hallada en un zoológico de Malasia, donde el 11,2% de los animales fueron positivos a este parásito (Lim et al., 2008) y a aquella de un zoológico en Brasil, donde el 19,56% de los animales estaban infectados con este protozoo (Ludwig y

Marques, 2011). Esta diferencia pudiera deberse a que en los estudios de Lisboa y España ningún animal presentaba signología clínica indicativa de criptosporidiosis, y a que se muestreaban en su mayoría animales adultos; mientras que en aquellos de Malasia y Brasil se incluyeron animales con signología clínica y de todas las edades, factor relevante debido a que *Cryptosporidium* spp. es más frecuente en animales jóvenes (menores a dos meses) con diarrea (Alves *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2008).

Por otra parte, en el presente estudio, los animales mayormente infectados por este parásito correspondieron a los carnívoros (63,64%) y ungulados (36,36%), mientras que los primates, no presentaron *Cryptosporidium* spp. durante el periodo muestreado. De manera similar, Lim *et al.* (2008) describieron que en un zoológico de Malasia los más infectados fueron los felinos (14,3%), seguidos por primates (14,1%), y que los menos infectados fueron los ungulados (5,7%); mientras que Stancheva (2013) señala que en dos zoológicos de Italia, los que presentaron mayor positividad al protozoo fueron los primates (66,7%), seguido de artiodáctilos (25%), y finalmente carnívoros (10%). Estas diferencias pueden deberse a variados factores, como medidas de manejo (higiene, nutrición, fuente de agua y desparasitaciones), las distintas densidades poblacionales, y, a condiciones climatológicas y físicas de cada zoológico en particular (Appelbee 2005; Darabus *et al.*, 2014).

Por su parte, *Giardia* spp. se encontró en la presente memoria de título con una frecuencia de 17,65%, siendo también, los carnívoros aquellos mayormente infectados (47,22%), seguido por los ungulados (38,89%) y finalmente los primates (13,89%), cifras similares a aquellas encontradas en el zoológico de Zagreb en Croacia, donde el 29% de los animales resultó ser positivo a este parásito, siendo los animales del Orden Carnivora los mayormente afectados (57%), seguido por Artiodactyla (50%) y Primates (50%). Es importante destacar que, en ambos estudios, a pesar de tener proporciones de infección altas, todos los animales eran asintomáticos al momento del muestreo, lo que puede deberse a una baja carga parasitaria en los animales (Beck *et al.*, 2011). Sin embargo, la proporción de infección hallada en esta memoria es mayor a la descrita en un estudio hecho en el Zoológico Nacional de Santiago (Salas, 1985), donde hubo un porcentaje de infección del 9,8%, siendo mayor en primates (14,3%), seguido de ungulados (12,5%) y finalmente carnívoros (2,9%). Las diferencias de proporciones de infección a *Giardia* spp. encontradas

en los zoológicos puede deberse a variados factores, previamente discutidos, siendo la fuente de agua el más relevante para la transmisión de estos endoparásitos.

Por otro lado, se describe que *Cryptosporidium* spp. es el protozoo más común encontrado en primates, ya que éstos son altamente vulnerables, pues viven en grupos sociales cerrados y en áreas pequeñas, facilitándose así la infección y reinfección por una mayor acumulación parasitaria (Ludwig y Marques, 2011; Gunasekera *et al.*, 2012). Sin embargo, en el presente estudio los primates no se vieron infectados por el parásito. Por otra parte, está descrito en la literatura que *Giardia* spp. es altamente encontrado en este grupo animal, con prevalencias de hasta 94%. Por ejemplo Levecke *et al.*, (2007) y Berrilli *et al.*, (2011) muestrearon primates asintomáticos en cuatro zoológicos de Bélgica y en un Bioparque de Roma respectivamente, y obtuvieron como resultados un 41% y 47% de muestras positivas a *Giardia* spp. describiendo que las diferencias de proporción encontradas entre primates pueden deberse a susceptibilidades por especie, siendo mayormente afectados los simios, y los lémures (*Lemur catta*) en el parque italiano. El alto porcentaje encontrado en el Bioparque de Italia se creyó estar relacionado al ingreso de una colonia de lémures, probablemente infectados, pero asintomáticos (Berrilli *et al.*, 2010). Sin embargo, en el presente estudio, los primates tuvieron un menor porcentaje de positividad al parásito (13,89%), el cual solamente se observó en primavera y verano, no presentando excreción parasitaria durante las estaciones de otoño e invierno. Las razones que pudiesen justificar las bajas (o nulas) proporciones de infección para ambos parásitos corresponden a particularidades del parque, ya discutidas previamente. Además, a diferencia del caso italiano, en el periodo muestreado en el Buin Zoo no hubo ningún ingreso de primates provenientes del exterior que pudieran ser portadores del parásito (Darabus *et al.*, 2014), sólo hubo nacimientos. Al respecto, en verano del 2014 nacieron dos monos tití oreja de pincel (*Callithrix aurita*) previo al muestreo de aquella estación, que coincide con un resultado positivo al parásito, por lo que pudiera estar relacionado, ya que al ser animales jóvenes, y poseer menor inmunidad, son más susceptibles a las infecciones parasitarias.

Por otro lado, las mayores proporciones de infección obtenidas para ambos protozoos en los animales del Orden Carnivora y Superorden Ungulata en el presente estudio, pueden deberse a factores específicos ya expuestos, siendo la fuente de agua el más relevante. Sin

embargo, de igual modo es importante mencionar que sí hubo movimientos de animales pertenecientes a estos grupos durante el periodo muestreado, pudiendo sugerir una relación con los resultados obtenidos (Darabus *et al.*, 2014). En el caso de los carnívoros, el único ingreso fue el de los tigres de bengala (*Panthera tigris tigris*) en primavera del 2013, que ingresaron por cuarentena. Luego de esto, no hubo variación en el resultado a *Giardia* spp. en el muestreo siguiente, permaneciendo negativo. Por otro lado, en el caso de los ungulados, hubo un ingreso de rinocerontes (*Ceratotherium simum*) en invierno del 2013, habiendo pasado por una cuarentena previa en el lugar de origen y en el Parque Zoológico Buin Zoo, y se observó que el recinto permaneció negativo a ambos parásitos en el muestreo siguiente. También, hubo un ingreso de cebras (*Equus quagga*) en otoño del 2014, sin haber pasado por una cuarentena previa, y se observó en el muestreo siguiente un cambio en la infección del recinto, pasando de ser negativo a positivo a *Cryptosporidium* spp. Así, esto podría a su vez sugerir la relevancia de realizar cuarentenas previas al ingreso de cualquier animal a un parque zoológico, para disminuir el riesgo de introducción de un patógeno (Berrilli *et al.*, 2011). Sin embargo, esto no puede asegurarse debido a la falta de datos sobre los resultados a los exámenes realizados en las cuarentenas de cada animal, necesarios para poder realizar una correcta correlación entre los resultados obtenidos y los movimientos animales. Por ejemplo, en invierno del 2014 se describe un ingreso externo sin cuarentena de individuos al recinto de los pudúes (*Pudu puda*), que no tuvo incidencia frente a la positividad de ambos parásitos.

Otro punto importante a analizar es el caso de los carnívoros del Sector III, quienes habitan en recintos con menor incidencia climática, siendo su temperatura regulada por el parque en las estaciones de invierno y otoño. Se describe que aquellos animales en recintos sin contacto con el exterior, con un alta humedad artificial y temperaturas moderadas, presentan mayores prevalencias que otros recintos que se encuentran a la intemperie, pues poseen mejores condiciones para que exista una mayor sobrevivencia del parásito en el ambiente (Appelbee *et al.*, 2005; Darabus *et al.*, 2014). Sin embargo, en la presente memoria de título sólo hubo resultados positivos a *Cryptosporidium* spp. durante invierno, en el Sector III, para ser el resto del año negativo; y, por otro lado, se pudo observar que hubo presencia de *Giardia* spp. a lo largo de todo el año, exceptuando primavera del 2014.

Otro factor que también puede influir en las diferentes proporciones de infección encontradas es el manejo realizado por los cuidadores del parque, pudiendo ellos inclusive ser vectores mecánicos del parásito por pobres medidas de bioseguridad (Gunasekera *et al.*, 2012; Stancheva, 2013; Darabus *et al.*, 2014). Por esto, se decidió comparar las proporciones de infección obtenidas para cada parásito evaluado, entre grupos animales de un mismo Superorden/Orden, pero diferente ubicación en el parque, y se obtuvo como resultado que no existe una relación significativa entre estos datos, indicando que las diferencias de presencia parasitaria entre sectores probablemente se deban al azar y no a un efecto geográfico ni de manejo realizado por distintos cuidadores.

Las condiciones climáticas también pueden ser factores que influyan en los porcentajes de infección obtenidos por animales de zoológicos, tomando importancia las prácticas conductuales y de manejo específicas para cada estación del año en la mantención de una infección (Mark-Carew *et al.*, 2010). Por esta razón, es que se analizaron las proporciones de infección obtenidas tanto a *Cryptosporidium* spp. como a *Giardia* spp., por grupos animales del mismo Superorden/Orden, en las distintas estaciones del año, para verificar si existía alguna estacionalidad, como aquella observada por Gracenea *et al.*, (2002) en un zoológico de Barcelona, España, donde ocurría una mayor excreción de *Cryptosporidium* spp. durante los periodos más fríos y húmedos del año (otoño e invierno), debido a que los animales pasan una mayor cantidad de tiempo en sus dormitorios, que están cubiertos de paja, donde los ooquistes están protegidos del sol y se concentran en un área más pequeña, aumentando así su supervivencia y la posibilidad de infección. Otro estudio realizado por Pérez *et al.*, (2008), en el zoológico de Almuñecar, España, encontró una estacionalidad marcada de criptosporidiosis durante verano, otoño e invierno, debido a que los animales viven en recintos al aire libre durante el año, siendo el invierno muy frío y no apto para la supervivencia del parásito. La comuna de Buin posee unas condiciones climáticas similares a Barcelona (Santibáñez, 2012), por lo que se esperaba presenciar una diferencia significativamente estadística para las estaciones frías del año. Sin embargo, se determinó que las variaciones existentes en las proporciones de infección a *Cryptosporidium* spp. en ungulados y carnívoros no lograron una significancia estadística. Por otro lado, también se quiso verificar si existía alguna estacionalidad a *Giardia* spp., como aquella observada por

Varela y Rojas (2013) en un zoológico de Colombia, donde se encontró que la mayor excreción de quistes de *Giardia* spp. estaba relacionada con los meses lluviosos del año (otoño e invierno), o aquella encontrada por Mark-Carew *et al.*, (2010) en bovinos de granjas de Nueva York, Estados Unidos, donde observaron mayores tasas de infección en invierno y verano.

Se determinó con la prueba Q de Cochran que existía una diferencia significativa en las proporciones de infección de *Giardia* spp. en ungulados y primates, según estación del año. Sin embargo, al realizar un análisis en específico entre pares estacionales para establecer qué estación marcaba la diferencia, se observó que ningún Orden lograba tener un resultado estadísticamente significativo al ser sometido a la corrección de Yates. Sin embargo, al calcular los valores del estadígrafo McNemar sin esta corrección de continuidad, se obtuvo como resultado que las muestras de ungulados y primates positivas a quistes de *Giardia* spp. fueron estadísticamente más abundantes durante verano. La mayor frecuencia parasitaria en verano pudiera deberse a las diferencias conductuales existentes para cada estación del año. Por ejemplo, Mark-Carew *et al.* (2010) describieron que en verano los animales pasan más tiempo en los exhibidores al aire libre, pastoreando, nadando en piscinas (en caso que hubiere), o tomando agua de río o de bebedero (potable/pozo), las cuales pudieran estar contaminadas con quistes parasitarios, y así, predisponer a la propagación de la infección parasitaria durante la estación estival.

Además, en estos casos se puede apreciar cómo el pequeño tamaño muestral afecta los resultados obtenidos. Por ejemplo, si se aumenta en un recinto el tamaño muestral de los ungulados ($n = 19$, en vez de 18), siendo este un caso positivo a *Giardia* spp. en verano, y negativo en otoño, el resultado cambia, volviéndose significativa la diferencia de valores ($\chi^2 = 6$ y $p = 0,014$), inclusive bajo la corrección de Yates ($\chi^2_Y = 3,2$ y $p_Y = 0,041$). Sin embargo, es imposible ampliar el tamaño muestral en este estudio por haberse realizado un muestreo censal de todos los recintos del zoológico.

Según lo reportado hasta la fecha, esta sería la primera descripción de *Cryptosporidium* spp. en leones africanos (*Panthera leo*) y tigres de bengala (*Panthera tigris tigris*), así como también de *Giardia* spp. en pudúes (*Pudu puda*), nyalas (*Tragelaphus angasii*), jirafas (*Giraffa camelopardalis*), suricatas (*Suricatta suricatta*) y monos tití cabeza algodón

(*Saguinus oedipus*), pudiendo considerarse como posibles nuevos hospederos para cada parásito, faltando aun así, un mayor estudio para determinarlo con certeza.

De esta manera, se puede concluir que hubo presencia tanto de *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp. en animales asintomáticos del Parque Zoológico Buin Zoo, durante todo el periodo 2013-2014, con excepción de los primates, que no presentaron el primero de ellos. Así también, se determinó que el porcentaje de protozoos encontrado, debido al posible riesgo zoonótico que conlleva para trabajadores, médicos veterinarios y visitantes del parque, es relevante de acuerdo a lo indicado por Stancheva (2013). Al respecto, la implementación de un programa de control junto a medidas de prevención, es necesaria para prevenir la transmisión de estas zoonosis y asegurar la salud de los animales en el zoo (Darabus *et al.*, 2014). Dentro de esto, es importante considerar la incorporación de exámenes coproparasitarios seriados a los manejos preventivos realizados de manera rutinaria, haciendo tratamientos y protocolos de desparasitación interna adecuados (Stancheva, 2013). También, es relevante incluir un monitoreo ambiental de los recintos y del agua que circula por el parque, pues son medios de infección parasitaria. Por ejemplo, en un estudio hecho por Lim *et al.*, (2009) en un zoológico de Malasia, un 94% de las muestras de agua tomadas fueron positivas a quistes de *Giardia* spp., pudiendo así ayudar a la propagación de la infección entre animales y personas. De esta manera, también es importante incorporar el uso de agua potable en la mayoría de los recintos posibles, no solamente en primates y jaguares, para así disminuir el riesgo de contaminación parasitaria por esta vía. Sin embargo, para saber el verdadero potencial zoonótico, tanto de *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp., es necesaria la realización de técnicas moleculares, para poder determinar a qué especie pertenecen, dilucidar el posible origen de la infección, y así mejorar las medidas de control y prevención (Levecke *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2008).

Otro punto relevante a destacar es que visualmente las cargas parasitarias de las muestras analizadas fueron bajas, lo que pudiera deberse a correctos manejos de higiene y nutrición realizados por los trabajadores del parque, y se condice con lo descrito, al encontrar animales portadores sanos (Gracenea *et al.*, 2002; Beck *et al.*, 2011). En relación a esto, se debe señalar que los cuidadores del parque no parecieran ser vectores mecánicos de los

protozoos evaluados, por los resultados obtenidos, lo que podría explicarse por las medidas de bioseguridad existentes, como el uso de pediluvios, guantes e implementos específicos para cada recinto animal. Sin embargo, a pesar de haberse encontrado visualmente bajas cargas parasitarias, esto es un resultado de gran importancia epidemiológica, pues los ooquistes/quistes de estos protozoos son inmediatamente infectantes, pueden permanecer viables en el ambiente por largos periodos de tiempo, poseen una baja dosis infectante, y pueden diseminarse a través de lluvia o viento; lo que, sumado a que en los parques zoológicos la mayoría de los animales habita en recintos grupales, pudiera provocar que infecten o re-infecten a otros individuos del mismo recinto, o seres humanos en contacto con el zoológico (Gracenea *et al.*, 2002). En estos casos, adquieren especial relevancia las crías nacidas en cautiverio, pues al tener un sistema inmune menos desarrollado, son mayormente susceptibles a ser infectadas por estos parásitos, pudiendo desarrollar enfermedad e incluso conllevar la muerte de individuos; afectando así, la conservación *ex situ* de especies en el parque, lo que adquiere gran importancia en las especies cuyos estados de conservación son vulnerables o en peligro. Debido a esto, se recomienda enfatizar la educación de los trabajadores del parque respecto a estas zoonosis y sus vías de transmisión, para así mejorar las desinfecciones realizadas de los pisos y bebederos de cada recinto, como también ejercer un mayor control en la preparación de los alimentos frescos de los animales, para así prevenir la transmisión y diseminación de estos parásitos por estos medios.

Finalmente, también es relevante que los zoológicos reciban animales que hayan cursado por un debido proceso de cuarentena que acredite la situación sanitaria del animal; y que además, se realicen cuarentenas al momento de ingreso al parque, donde se tomen exámenes coprológicos seriados, tanto al inicio como al término de ésta, para así asegurar que los animales que estén ingresando al zoológico, estén libre de enfermedad y de infecciones concomitantes, que pudieran no sólo afectarlos a ellos, al resto de la colección de animales, y en especial cuidado, a las crías en cautiverio, sino que también a los seres humanos que tengan contacto con éstos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVES, M.; XIAO, L.; LEMOS, V.; ZHOU, L.; CAMA, V.; BARAO, M.; MATOS, O.; ANTUNES, F.** 2005. Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in mammals and reptiles at the lisbon Zoo. *Parasitol. Res.* 97: 108-112.
- APPELBEE, A.; THOMPSON, A.; OLSON, M.** 2005. Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife—current status and future needs. *Trends Parasitol.* 21(8): 370-376.
- ATÍAS, A.** 1998. *Parasitologías Médica.* Ed. Mediterráneo. Santiago, Chile. 615 p.
- BABB, K.** 2002. Los zoológicos en México: una visión del pasado y sus tareas actuales. In: *Relaciones hombre-fauna.* Ed. Playa y Valdés. México, D. F. pp. 51-62.
- BECK, R.; SPRONG, H.; BATA, I.; LUCINGER, S.; POZIO, E.; CACCIÓ, S.** 2011. Prevalence and molecular typing of Giardia spp. in captive mammals at the zoo of Zagreb, Croatia
- BERRILLI, F.; PRISCO, C.; FRIEDRICH, K.; DI CERBO, P.; DI CAVE, D.; DE LIBERATO, C.** 2011. Giardia duodenalis assemblages and Entamoeba species infecting non-human primates in an Italian zoological garden: zoonotic potential and management traits. *Parasites & Vectors* 4 (199): 1-8.
- DARABUS, G.; MIHAITA, A.; HOTEA, I.; IMRE, M.; MORARIU, S.** 2014. Endoparasites in mammals from seven zoological gardens in Romania. *J Zoo Wildl Med.* 45 (2): 239-246.
- FAYER, R.** 2004. Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.* 126: 37-56
- FIALHO, C.; OLIVEIRA R.; TEIXEIRA, M.; MARQUES, S.; OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, R.; ARAUJO, F.** 2008. Comparação da infecção por protozoários em chinchilla (*Chinchilla lanigera*) de uma criação comercial do município de Viamão-RS, Brasil, e de chinchilas no seu habitat natural, Chile. *Parasitol. Latinoam.* 63: 85-87.
- GARCÍA, F.** 2008. Revisión: Enfermedades Infecciosas emergentes: Interacción entre el mundo microbiano y las sociedades humanas. *Acta Med. Costarric.* 50 (3): 136-143.
- GONÇALVES, E.; ARAUJO, R.; ORBAN, M.; MATTE, G.; MATTE, M.; CORBETT, C.** 2008. Technical report: Protocol for DNA Extraction of *Cryptosporidium* spp. oocysts in fecal samples. *Rev. Inst. Med. Trop.* 50: 165-167.
- GRACENEA, M.; GÓMEZ, M.; TORRES, J. CARNÉ, E.; FERNÁNDEZ-MORÁN, J.** 2002. Transmission dynamics of *Cryptosporidium* in primates and herbivores at the Barcelona zoo: a long-term study. *Vet. Parasitol.* 104: 19-26.
- GREGER, M.** 2007. The Human/Animal Interface: Emergence and Resurgence of Zoonotic Infectious Diseases. *Critical Rev. In Microbiol.* 33(4):243-299.

- GUNASEKERA, U.; WICKRAMASINGHE, S.; WIJESINGHE, G.; RAJAPAKSE, R.** 2012. Gastrointestinal parasites of captive primates in the national zoological gardens of Sri Lanka. *Taprobanica*. 4(1): 37-41.
- GUTIÉRREZ, J. GAONA, J.; SABATER, V.; LELIS, F.** 2005. Giardiasis intestinal, con manifestaciones serológicas y clínicas de enfermedad celiaca: A propósito de un caso. **In:** Séptimo Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. 1-31 octubre, 2005. pp 6.
- HENRICKSEN, S.; POHLENZ J.** 1981. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand*, 22:594-6.
- LEVECKE, B.; DORNY, P.; GEURDEN, T.; VERCAMMEN, F.; VERCROYSSSE, J.** 2007. Gastrointestinal protozoa in non-human primates of four zoological gardens in Belgium. *Vet. Parasitol.* 148: 236–246.
- LIM, Y. NGUI, R.; SHUKRI, J.; ROHELA, M.; NAIM, H.** 2008. Intestinal parasites in various animals at a zoo in Malaysia. *Vet. Parasitol.* 157: 154-159.
- LIM, Y.; LAI, M.; MAHDYA, M.; MAT, H.; SMITH, H.** 2009. Molecular detection of *Giardia* contamination in water bodies in a zoo. *Environ Res.* 109: 857-859.
- LUDWIG, R.; MARQUES, S.** 2011. Ocurrance of *Cryptosporidium* spp. oocysts in mammals at a zoo in southern Brazil. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 70 (1): 122-128
- MARK-CAREW, M.; KHAN, Y.; WADE, S.; SCHAAF, S.; MOHAMMED, H.** 2010. Incidence of and risks associated with *Giardia* infections in herds on diary farms in the New York City Watershed. *Acta Vet. Scand.* 52 (44): 1-8.
- MOLINA, N.; POLVERINO, D.; MINVIELLE, M.; APEZTEGUIA, M.; AGUILAR, M.; BASUALDO, J.** 2006. Comparación de métodos de lisis y extracción de ADN de trofozoítos de *Giardia lamblia*. *Parasitol. Latinoam.* 61: 133-137.
- NEIRA, P.** 2005. Acerca de *Cryptosporidium* spp. en Chile. *Rev. Med. Chile.* 133: 847-849.
- OPARA, M.; OSUJI, C.; OPARA, J.** 2010. Gastrointestinal parasitism in captive animals at the zoological garden, Nekede Owerri, South-east Nigeria. *Report and Opinion.* 2: 21-28.
- OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** 2015. Zoonoses. [en línea] <<http://www.who.int/zoonoses/en/>> [consulta: 04-07-14]
- PÉREZ, G.; HITOS, A.; ROMERO, D.; SÁNCHEZ, M.; PONTES, A.; OSUNA, A.; ROSALES, M.** 2008. Intestinal parasitism in the animals of the zoological garden “Peña Escrita” (Almuñecar, Spain). *Vet Parasitol.* 156: 302-309.
- QUADROS, R.; MARQUES, S.; AMENDOEIRA, C.; SOUZA, L.; AMENDOEIRA, P.; COMPARIN, C.** 2006. Detection of *Cryptosporidium* oocysts by aueamine and Ziehl Neelsen staining methods. *Parasitol. Latinoam.* 61: 117-120.

- SALAS, D.** 1985. Estudio preliminar de algunos parasitismos en animales del Zoológico Nacional del Parque Metropolitano de Santiago. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 67 p.
- SANTIBÁNEZ, P.** 2012. Boletín Agroclimático Regional: Región Metropolitana Período Enero - Noviembre 2012. [en línea] <http://www.agroclima.cl/descargas/Boletin_RM_Enero2012.pdf> [consulta: 04-07-14]
- SHAHIDUZZAMAN, M.; DAUGSCHIES, A.** 2012. Therapy and prevention of cryptosporidiosis in animals. *Vet. Parasitol.* 1-12.
- STANCHEVA, M.** 2013. Parasites in Captive Animals: A Review of Studies in Some European Zoos. *Zool. Gart.* 82(1-2): 60-71.
- VARELA, N.; ROJAS, Z.** 2013. Estudio retrospectivo de la Presencia de *Giardia* spp. en animales de la colección del Zoológico Matecaña de Pereira, Colombia. Mem. Conf. Interna. Med. Aprovech. Fauna. Silv. Exót. Conv. 9 (2): 58-73.
- VERONESI, F.; PASSAMONTI, F.; CACCIO, S.; DIAFERIA, M.; PIERGILI, D.** 2010. Epidemiological Survey on equine Cryptosporidium and Giardia infections in Italy and Molecular Characterization of Isolates. *Zoonoses Public Hlth* 57: 510-517.
- XIAO, L.; FAYER, R.** 2008. Molecular characterisation of species and genotypes of Cryptosporidium and Giardia and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology.* 38: 1239-1255.
- ZHANG, W.; ZHANG, X.; WANG, R.; LIU, A.; SHEN, Y.; LING, H.; CAO, J.; YANG, F.; ZHANG, X.; ZHANG, L.** 2012. Genetic characterizations of *Giardia duodenalis* in Sheep and Goats in Heilongjiang Province, China and Possibility of Zoonotic Transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6 (9): 1-8.

Anexo Nro. 1. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y quistes de *Giardia* spp. en la totalidad de muestras fecales de mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013.

Parásito	Positivos	Negativos	Total
<i>Cryptosporidium</i> spp.	4	47	51
<i>Giardia</i> spp.	13	38	52
Total	17	85	102

Siendo $\chi^2 = 5,718$; $p = 0,017$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 4,52$ y $p Y = 0,034$.

Anexo Nro. 2. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y quistes de *Giardia* spp. en la totalidad de muestras fecales de mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014.

Parásito	Positivos	Negativos	Total
<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	49	51
<i>Giardia</i> spp.	13	38	51
Total	15	87	102

Siendo $\chi^2 = 9,458$; $p = 0,002$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 7,8$ y $p Y = 0,005$.

Anexo Nro. 3. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y quistes de *Giardia* spp. en la totalidad de muestras fecales de mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014.

Parásito	Positivos	Negativos	Total
<i>Cryptosporidium</i> spp.	3	48	51
<i>Giardia</i> spp.	4	47	51
Total	7	95	102

Siendo $\chi^2 = 0,153$; $p = 0,69$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0$ y $p Y = 1$.

Anexo Nro. 4. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y quistes de *Giardia* spp. en la totalidad de muestras fecales de mamíferos terrestres del Parque Zoológico Buin Zoo durante primavera, 2014.

Parásito	Positivos	Negativos	Total
<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	49	51
<i>Giardia</i> spp.	6	45	51
Total	8	94	102

Siendo $\chi^2 = 2,17$; $p = 0,141$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 1,22$ y $p Y = 0,269$.

Anexo Nro. 5. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en heces de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Ungulados	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Vicugna pacos</i>	-	-	-	-
<i>Lama guanicoe</i>	-	-	-	-
<i>Sus scrofa</i>	-	-	-	-
<i>Lama glama</i>	-	-	-	-
<i>Ovis aries</i>	-	-	-	-
<i>Ovis orientalis</i>	-	-	-	-
<i>Pudu puda</i>	-	-	-	-
<i>Tapirus terrestris</i>	-	-	-	-
<i>Bos taurus</i>	-	-	+	-
Sector II				
<i>Tragelaphus eurycerus</i>	-	-	-	-
<i>Nyala angasii</i>	-	-	-	-
<i>Camelos bactrianus</i>	-	-	-	-
<i>Equus quagga</i>	-	+	-	+
<i>Cervus elaphus</i>	-	-	-	-
<i>Gazella</i> spp.	-	-	-	-
<i>Giraffa camelopardalis</i>	-	+	-	-
<i>Ovis orientalis musimon</i>	-	-	-	-
<i>Cerathoterium simum</i>	-	-	-	-

Anexo Nro. 6. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en heces de carnívoros del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Carnívoros	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Panthera onca</i>	-	-	-	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	+	-	-	-
<i>Ursus arctos</i>	-	-	-	-
<i>Puma concolor</i>	-	-	-	+
<i>Alopex lagopus</i>	-	-	-	-
<i>Lycalopex culpaeus</i>	-	-	-	-
<i>Vulpes vulpes</i> (zorro plateado)	-	-	-	-
<i>Vulpes vulpes</i> (zorro rojo)	-	-	+	-
Sector II				
<i>Panthera leo</i>	+	-	-	-
<i>Lycaon pictus</i>	-	-	-	-
<i>Canis lupus lupus</i>	-	-	-	-
<i>Helarctos malayanus</i>	-	-	+	-
<i>Suricata suricatta</i>	-	-	-	-
<i>Panthera tigris tigris</i>	+	-	-	-
Sector III				
<i>Caracal caracal</i>	-	-	-	-
<i>Genetta genetta</i>	-	-	-	-
<i>Potos flavos</i>	-	-	-	-
<i>Procyon lotor</i>	-	-	-	-
<i>Mephitis mephitis</i>	-	-	-	-
<i>Leopardus pardalis</i>	+	-	-	-

Anexo Nro. 7. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en heces de primates del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Primates	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Ateles paniscus</i>	-	-	-	-
<i>Saimiri sciureus</i>	-	-	-	-
<i>Alouatta spp.</i>	-	-	-	-
<i>Sapajus apella</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus oedipus</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus fuscicollis</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus labiatus</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus midas</i>	-	-	-	-
<i>Callithrix jacchus</i>	-	-	-	-
<i>Chlorocebus sabaesus</i>	-	-	-	-
Sector II				
<i>Lemur catta</i>	-	-	-	-
<i>Colobus guereza</i>	-	-	-	-
<i>Papio hamadryas</i>	-	-	-	-

Anexo Nro. 8. Presencia de quistes de *Giardia* spp. en heces de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Ungulados	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Vicugna pacos</i>	-	-	-	-
<i>Lama guanicoe</i>	-	-	-	-
<i>Sus scrofa</i>	+	-	-	-
<i>Lama glama</i>	-	-	-	-
<i>Ovis aries</i>	-	-	-	-
<i>Ovis orientalis</i>	+	+	-	-
<i>Pudu puda</i>	-	+	-	-
<i>Tapirus terrestris</i>	-	-	-	-
<i>Bos tautus</i>	-	-	-	-
Sector II				
<i>Tragelaphus eurycerus</i>	-	+	+	-
<i>Nyala angasii</i>	+	+	-	-
<i>Camelos bactrianus</i>	+	-	-	-
<i>Equus quagga</i>	-	-	-	-
<i>Cervus elaphus</i>	+	+	-	-
<i>Gazella</i> spp.	-	+	-	-
<i>Giraffa camelopardalis</i>	-	-	-	+
<i>Ovis orientalis musimon</i>	+	-	-	-
<i>Cerathoterium simum</i>	-	-	-	-

Anexo Nro. 9. Presencia de quistes de *Giardia* spp. en heces de carnívoros del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Carnívoros	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Panthera onca</i>	-	-	-	-
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	+	-	-	-
<i>Ursus arctos</i>	+	+	-	+
<i>Puma concolor</i>	+	-	-	-
<i>Alopex lagopus</i>	-	-	+	-
<i>Lycalopex culpaeus</i>	-	-	-	-
<i>Vulpes vulpes</i> (zorro plateado)	+	-	-	-
<i>Vulpes vulpes</i> (zorro rojo)	-	-	+	+
Sector II				
<i>Panthera leo</i>	+	-	-	-
<i>Lycaon pictus</i>	-	-	-	-
<i>Canis lupus lupus</i>	-	-	-	-
<i>Helarctos malayanus</i>	-	+	-	+
<i>Suricata suricatta</i>	+	-	-	+
<i>Panthera tigris tigris</i>	-	-	-	-
Sector III				
<i>Caracal caracal</i>	-	-	-	-
<i>Genetta genetta</i>	-	-	-	-
<i>Potos flavos</i>	-	-	-	-
<i>Procyon lotor</i>	-	+	-	-
<i>Mephitis mephitis</i>	-	-	-	-
<i>Leopardus pardalis</i>	+	-	+	-

Anexo Nro. 10. Presencia de quistes de *Giardia* spp. en heces de primates del Parque Zoológico Buin Zoo, por sector interno del parque y según estación del año (en orden de muestreo).

Primates	Invierno	Verano	Otoño	Primavera
Sector I				
<i>Ateles paniscus</i>	-	+	-	-
<i>Saimiri sciureus</i>	-	-	-	-
<i>Alouatta spp.</i>	-	-	-	-
<i>Sapajus apella</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus oedipus</i>	-	+	-	-
<i>Saguinus fuscicollis</i>	-	-	-	-
<i>Saguinus labiatus</i>	-	+	-	-
<i>Saguinus midas</i>	-	-	-	-
<i>Callithrix jacchus</i>	-	+	-	-
<i>Chlorocebus sabaesus</i>	-	-	-	+
Sector II				
<i>Lemur catta</i>	-	-	-	-
<i>Colobus guereza</i>	-	-	-	-
<i>Papio hamadryas</i>	-	-	-	-

Anexo Nro. 11. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	0	9	9
USII	0	9	9
Total	0	18	18

En estos casos, es imposible calcular el valor de los indicadores, debido a que la ecuación se indefine.

Anexo Nro. 12. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	0	9	9
USII	2	7	9
Total	2	16	18

Siendo $\chi^2 = 2,25$; $p = 0,134$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2_Y = 0,563$ y $p_Y = 0,453$.

Anexo Nro. 13. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	1	8	9
USII	0	9	9
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 1,059$; $p = 0,303$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2_Y = 0$ y $p_Y = 1$.

Anexo Nro. 14. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante primavera, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	0	9	9
USII	1	8	9
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 1,059$; $p = 0,303$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2_Y = 0$ y $p_Y = 1$.

Anexo Nro. 15. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	1	7	8
CSII	2	4	6
CSIII	1	5	6
Total	4	16	20

Siendo $\chi^2 = 0,99$; $p = 0,609$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2_Y = 0,195$ y $p_Y = 0,907$.

Anexo Nro. 16. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	0	8	8
CSII	0	6	6
CSIII	0	6	6
Total	0	20	20

En estos casos, es imposible calcular el valor de los indicadores, debido a que la ecuación se indefine.

Anexo Nro. 17. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	1	7	8
CSII	1	5	6
CSIII	0	6	6
Total	2	18	20

Siendo $\chi^2 = 1,019$; $p = 0,601$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,162$ y $p Y = 0,922$.

Anexo Nro. 18. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante primavera, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	1	7	8
CSII	0	6	6
CSIII	0	6	6
Total	1	19	20

Siendo $\chi^2 = 1,579$; $p = 0,454$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,307$ y $p Y = 0,857$.

Anexo Nro. 19. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en muestras fecales de primates del Sector I (PSI) y Sector II (PSII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante el periodo 2013 – 2014 muestreado.

Sector	Positivos	Negativos	Total
PSI	0	10	10
PSII	0	3	3
Total	0	13	13

En estos casos, es imposible calcular el valor de los indicadores, debido a que la ecuación se indefine.

Anexo Nro. 20. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y verano, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	2	7	9
USII	4	5	9
Total	6	12	18

Siendo $\chi^2 = 1$; $p = 0,317$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,25$ y $p Y = 0,617$.

Anexo Nro. 21. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Sector I (USI) y Sector II (USII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño y primavera, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
USI	0	9	9
USII	1	8	9
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 1,059$; $p = 0,303$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0$ y $p Y = 1$.

Anexo Nro. 22. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	4	4	8
CSII	2	4	6
CSIII	1	5	6
Total	7	13	20

Siendo $\chi^2 = 1,685$; $p = 0,431$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,65$ y $p Y = 0,723$.

Anexo Nro. 23. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	1	7	8
CSII	1	4	5
CSIII	1	4	5
Total	3	15	18

Siendo $\chi^2 = 0,065$; $p = 0,968$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,507$ y $p Y = 0,776$.

Anexo Nro. 24. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	2	6	8
CSII	0	6	6
CSIII	1	5	6
Total	3	17	20

Siendo $\chi^2 = 1,699$; $p = 0,428$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,507$ y $p Y = 0,776$.

Anexo Nro. 25. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de carnívoros del Sector I (CSI), Sector II (CSII) y Sector III (CSIII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante primavera, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
CSI	2	6	8
CSII	2	4	6
CSIII	0	6	6
Total	4	16	20

Siendo $\chi^2 = 2,292$; $p = 0,378$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,612$ y $p Y = 0,736$.

Anexo Nro. 26. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Sector I (PSI) y Sector II (PSII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y otoño, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
PSI	0	10	10
PSII	0	3	3
Total	0	13	13

En estos casos, es imposible calcular el valor de los indicadores, debido a que la ecuación se indefine.

Anexo Nro. 27. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Sector I (PSI) y Sector II (PSII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
PSI	4	6	10
PSII	0	3	3
Total	4	9	13

Siendo $\chi^2 = 1,72$; $p = 0,18$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,364$ y $p Y = 0,546$.

Anexo Nro. 28. Prueba de independencia de hipótesis entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Sector I (PSI) y Sector II (PSII) del Parque Zoológico Buin Zoo durante primavera, 2014.

Sector	Positivos	Negativos	Total
PSI	1	9	10
PSII	0	3	3
Total	1	12	13

Siendo $\chi^2 = 0,325$; $p = 0,56$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,44$ y $p Y = 0,5$.

Anexo Nro. 29. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y verano, 2014.

Inv/Ver	Positivos	Negativos	Total
Positivos	3	3	6
Negativos	3	9	12
Total	6	12	18

Siendo $\chi^2 = 0$; $p = 1$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,167$ y $p Y = 0,683$.

Anexo Nro. 30. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y otoño, 2014; como también durante invierno, 2013 y primavera, 2014.

Inv/Ot-Prim	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	6	6
Negativos	1	11	12
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 3,57$; $p = 0,058$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 2,286$ y $p Y = 0,131$.

Anexo Nro. 31. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014 y primavera, 2014.

Ot/Prim	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	1	1
Negativos	1	16	17
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 0$; $p = 1$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0,5$ y $p Y = 0,479$.

Anexo Nro. 32. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo durante otoño, 2014 y verano, 2014.

Ot/Ver	Positivos	Negativos	Total
Positivos	1	0	1
Negativos	5	12	17
Total	6	12	18

Siendo $\chi^2 = 5$; $p = 0,025$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 3,2$ y $pY = 0,074$.

Anexo Nro. 33. Test McNemar para analizar diferencias entre la presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de ungulados del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014 y primavera, 2014.

Ver/Prim	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	6	6
Negativos	1	11	12
Total	1	17	18

Siendo $\chi^2 = 3,571$; $p = 0,058$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 2,286$ y $pY = 0,131$.

Anexo Nro. 34. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y verano, 2014; como también durante otoño, 2014 y verano, 2014.

Inv-Ot/Ver	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	0	0
Negativos	4	9	13
Total	4	9	13

Siendo $\chi^2 = 4$; $p = 0,046$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 2,250$ y $pY = 0,134$.

Anexo Nro. 35. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y otoño, 2014.

Inv/Ot	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	0	0
Negativos	0	13	13
Total	0	13	13

En este caso, es imposible calcular el valor de los estadígrafos, debido a que no existe diferencia entre la cantidad de muestras positivas en invierno y otoño.

Anexo Nro. 36. Test McNemar para analizar diferencias entre presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Parque Zoológico Buin Zoo durante invierno, 2013 y primavera, 2014; como también durante otoño, 2014 y primavera, 2014.

Inv- Ot/Prim	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	0	0
Negativos	1	12	13
Total	1	12	13

Siendo $\chi^2 = 1$; $p = 0,317$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2 Y = 0$ y $p Y = 1$.

Anexo Nro. 37. Test McNemar para analizar diferencias entre la presencia de quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de primates del Parque Zoológico Buin Zoo durante verano, 2014 y primavera, 2014.

Ver/Prim	Positivos	Negativos	Total
Positivos	0	4	4
Negativos	1	8	9
Total	1	12	13

Siendo $\chi^2 = 1,8$; $p = 0,179$. Al aplicarse la corrección de Yates, los resultados cambian a $\chi^2_Y = 0,8$ y $p_Y = 0,372$.