



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

**PESQUISA DE *Giardia* spp. Y *Cryptosporidium* spp. EN CASTORES  
(*Castor canadensis*) DEL PARQUE NATURAL KARUKINKA, TIERRA  
DEL FUEGO, CHILE**

**Gabriela Ignacia Contreras Buvinic**

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

PROFESOR GUÍA: CRISTÓBAL BRICEÑO URZÚA  
UNIVERSIDAD DE CHILE  
Financiamiento: Convenio Wildlife Conservation Society – Chile y FAVET

SANTIAGO, CHILE  
2020



## **AGRADECIMIENTOS**

Primero quiero agradecer a mi familia, a mi mamá, mi papá y a Eduardo por el apoyo, la compañía y la paciencia, no fue algo fácil, ha sido un proceso muy largo y a pesar de todo siempre han estado ahí. También agradecer a Wildlife Conservation Society (WCS) por permitirme conocer y trabajar en el Parque Natural Karukinka, a la gestión y voluntad de Alejandro Kusch y Catherine Dougnac, muchas gracias. A los guardaparques Mauricio Chacón y Rodrigo Munzenmayer, también a los ex-guardaparques Gary Cárcamo, Jorge Vidal y Miguel Millán, agradeceles a todos por haberme enseñado tantas cosas en terreno además de agregarle siempre la cuota de diversión. A los voluntarios que me acompañaron, Javier Bustos, Ana Gnazzo y Macarena Soto, personas maravillosas que alegraron cada trampeo y estadia en el parque. Además sin la ayuda de los estudiantes de FAVET, que realizaban sus prácticas e internados, no hubiese sido posible recolectar las muestras, gracias de verdad.

En el laboratorio, quiero agradecer especialmente a Patricio Toro, quien fue una persona fundamental en el desarrollo de mi memoria, que a veces tenía paciencia y otras no tanto pero al final siempre tenía dedicación para enseñarme el mundo de la parasitología; además de ser una bonita persona con la que sé que podré contar por siempre (y viceversa, obviamente). También darles las gracias a Daniela Marcone, Maira Riquelme, Bárbara Fredes y Francisca Acuña por generar un ambiente tan agradable en el laboratorio. Al Dr. Fredes y la Dra. Ramírez muchísimas gracias por su tiempo, los conocimientos entregados, las correcciones precisas y por su tremenda voluntad de atender mis dudas.

Y obvio que mis agradecimientos van a mi profesor guía, Cristóbal Briceño, quién me dio la oportunidad de conocer y participar de este convenio con WCS. Gracias a esto, conocí lugares y personas maravillosas, además de acercarme un poco más a la conservación. Gracias por el apoyo constante y las ganas para que esto diera frutos.

Gracias.

## **INDICE**

<b>RESUMEN</b> .....	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
CASTOR AMERICANO ( <i>CASTOR CANADENSIS</i> ) .....	3
SITUACIÓN EN CHILE: UNA ESPECIE ÉXOTICA INVASORA.....	3
PARÁSITOS Y ZONOSIS .....	4
GIARDIA SPP. ....	4
CRYPTOSPORIDIUM SPP. ....	6
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>8</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>9</b>
ÁREA DE ESTUDIO .....	9
TOMA DE MUESTRAS .....	9
ANÁLISIS DE LABORATORIO .....	10
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	12
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>13</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>14</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>18</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>19</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>23</b>

## RESUMEN

Las zoonosis son enfermedades transmitidas naturalmente desde animales al ser humano. *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. son agentes parasitarios protozoarios zoonóticos capaces de infectar a humanos, animales domésticos y silvestres a nivel mundial. Ambos parásitos tienen como principal vía de transmisión el agua y es en este contexto, en donde el castor americano (*Castor canadensis*) ha sido vinculado a su transmisión en Norteamérica, al habitar en cursos de agua que suelen ser utilizados por el humano para actividades recreativas o como fuente de agua potable. *C. canadensis* es una especie exótica invasora en Chile, con poblaciones por sobre los cien mil individuos y en la actualidad, no existe información acerca de la presencia de estos agentes. El presente estudio tuvo como objetivo identificar la presencia de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en heces de *Castor canadensis* de Tierra del Fuego, Chile. Para esto, se recolectaron 105 muestras totales, las que fueron analizadas a través de un examen coproparasitario de concentración utilizando las técnicas de Telemann modificado y Ziehl-Neelsen modificado. De esas 105 muestras fecales, 18 resultaron positivas a algún parásito (17,14%) y de ellas, 15 fueron positivas a *Giardia* spp. (14,28%) y 3 a *Cryptosporidium* spp. (2,87%). Se puede concluir la presencia de estos parásitos en la especie *C. canadensis*, siendo la primera descripción de estos protozoos en castores en Chile. Este un resultado importante dado el potencial riesgo zoonótico que implica; recomendándose implementar programas de control y prevención de enfermedades zoonóticas transmitidas a través del agua.

**Palabras claves:** Zoonosis, castores, *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., Telemann modificado, Ziehl-Neelsen modificado, fauna silvestre.

## ABSTRACT

Zoonoses are diseases naturally transmitted from animals to humans. *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. are zoonotic protozoan parasites, capable of infecting humans, domestic and wildlife worldwide. Both parasites use water as their main route of transmission and, in this context, the American beaver (*Castor canadensis*) has been linked to its presence in North America, since they live in waterways that are usually used by humans for recreational activities or as a source of drinking water. *C. canadensis* is an invasive exotic species in Chile, with populations over one hundred thousand individuals in Patagonia and at present, there is no information about the presence of these agents. The present study aimed to identify the existence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in feces of *C. canadensis* in Tierra del Fuego, Chile. By which, a total of 105 individuals were sampled and analyzed through a coproparasitic concentration test, using Telemann and acid-fast stains. Of the 105 analyzed faecal samples, 18 were positive for some parasite (17.14%), 15 of those were positive for *Giardia* spp. (14.28%) and 3 positive for *Cryptosporidium* spp. (2.87%). The presence of these parasites in the species *C. Canadensis* is conclusive, being the first description of these protozoa in beavers in Chile. It is an important given the zoonotic risk involved; It is recommended to implement programs for the control and prevention of zoonotic diseases transmitted through water.

**Key words:** Zoonoses, beavers, *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., Telemann stain, acid-fast stain, wildlife.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, una proporción significativa de las enfermedades humanas emergentes causadas por diversos agentes infecciosos tienen origen en animales domésticos o silvestres. Son las llamadas zoonosis (del griego zoon: animal), enfermedades transmitidas naturalmente desde animales al ser humano. De los aproximadamente 1.500 agentes de enfermedades transmisibles humanas actualmente conocidos, se estima que del 65% al 75% son de origen zoonótico. Estas enfermedades emergen por la mayor interacción entre los seres humanos, los animales domésticos y la fauna silvestre (Chhabra y Muraleedharan, 2016). Diversos factores, en su mayoría antropogénicos, como la expansión de la población humana, la sobreexplotación, la deforestación, la contaminación ambiental y el turismo, aumentan el riesgo de contacto con estos agentes zoonóticos (Thompson, 2013).

En cuanto a la fauna silvestre, muchas especies no pueden adaptarse a los factores anteriormente mencionados y son atraídas por los hábitats periurbanos y urbanos (Mackenstedt *et al.*, 2015), situación que representa una amenaza para la vida silvestre, porque, además de verse expuesta a nuevos patógenos, también pueden actuar como reservorio y/o amplificador de enfermedades emergentes y exóticas para los animales domésticos y los seres humanos (Thompson *et al.*, 2009).

Un ejemplo de una especie silvestre asociada a la transmisión de enfermedades zoonóticas es el castor americano (*Castor canadensis*). Este roedor tiene un estilo de vida semiacuático, realiza actividades de excavación y elaboración de madrigueras en cursos de agua y posee conductas alimentarias que incluyen la coprofagia (Dunlap y Thies, 2002). Debido a lo anterior, ha sido involucrado en numerosos casos en Norteamérica como reservorio zoonótico de patógenos humanos, incluyendo a *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp., ambos agentes parasitarios transmitidos por agua y con relevancia para la salud pública a nivel mundial (Fayer *et al.*, 2006; Feng y Xiao, 2011; Marti *et al.*, 2013).

Este mamífero fue introducido por el Gobierno argentino en la Isla Grande de Tierra del Fuego en 1946 y en la década del 60' la población ya se había expandido a través del Canal Beagle hacia Chile (Anderson *et al.*, 2009; Soto y Soza-Amigo, 2014). Recientemente se ha

descrito su presencia en las cercanías a Puerto Natales, confirmando su propagación hacia Patagonia continental (Pietrek y Fasola, 2014). El castor tiene una gran capacidad adaptativa en el medio ambiente, lo que le ha permitido colonizar casi todos los arroyos y ríos de la isla, recursos que son utilizados por el ser humano para recreación o fuente de agua, lo que implicaría a este roedor como una posible fuente de enfermedades zoonóticas (Appelbee *et al.*, 2005; Fayer *et al.*, 2006; Feng y Xiao, 2011; Li *et al.*, 2014; MMA, 2018a). Por lo tanto, las cuencas hidrográficas son vulnerables a la contaminación con agentes zoonóticos de la fauna silvestre y su detección además de una correcta identificación es esencial para la gestión de las fuentes de agua y la evaluación de riesgos (Li *et al.*, 2014).

Dentro de esta invasión territorial, se encuentra el Parque Natural Karukinka, parque privado propiedad de Wildlife Conservation Society (WCS), organización no gubernamental internacional que desde el año 2006 ha realizado capturas experimentales de esta especie y hace un par de años comenzó a participar del proyecto “Fortalecimiento y Desarrollo de Instrumentos para el Manejo, Prevención y Control del Castor (*Castor canadensis*), una Especie Exótica Invasora en la Patagonia Chilena”, con el fin de implementar acciones que ayuden a evitar el avance de la especie y preservar los bosques y otros ecosistemas nativos que hoy se ven afectados (MMA, 2018a). Este proyecto contempla la labor de guardaparques del Parque Natural Karukinka y de técnicos en control de especies exóticas, quienes están en contacto directo con los castores. Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios en Chile que entreguen prevalencias de los agentes zoonóticos anteriormente mencionados, por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar su presencia, para así establecer medidas de bioseguridad ante los diferentes manejos relacionados a esta especie.



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### **Castor americano (*Castor canadensis*)**

El castor americano es un roedor perteneciente a la familia Castoridae, originario de Norteamérica, que habita en zonas donde existan ríos y árboles de hojas caducas. Poseen la capacidad de cortar árboles maduros para alimentarse y construir diques, estos últimos cambian el curso de los ríos, disminuyendo la velocidad de las corrientes y aumentando la retención de sedimentos y materia orgánica (Baldini *et. al.*, 2008). Es por esto que son considerados ingenieros ecosistémicos, es decir, poseen la capacidad de modular la disponibilidad de recursos, modificando el estado físico de factores bióticos y abióticos en los ecosistemas que habita (Wallem *et. al.*, 2007).

### **Situación en Chile: Una especie exótica invasora**

El castor fue introducido por el Gobierno argentino en la Isla Grande de Tierra del Fuego durante el año 1946, con el fin de enriquecer la fauna nativa y fomentar el comercio de pieles (Pietrek y Fasola, 2014). Esta industria nunca prosperó, a diferencia de los 20 castores introducidos, los cuales se reprodujeron y expandieron a lagunas, ríos y turberas de la península austral, llegando a Chile en los años '60 y cruzando a otras islas como Navarino, Dawson y Hoste (Anderson *et. al.*, 2009; Pietrek y Fasola, 2014), inclusive encontrándose en Chile continental (Península de Brunswick) donde recientemente se capturó un castor a 200 km al norte del registro anterior, cerca de Puerto Natales, confirmando la propagación de castores al norte en el territorio continental de la Patagonia (Pietrek y Fasola, 2014).

Siendo el castor una especie introducida, no posee depredadores naturales en la Patagonia (Tadich *et al.*, 2018), en dónde encontró un ambiente propicio para colonizar y establecerse, convirtiéndose en una amenaza para los ecosistemas australes y comunidades biológicas del lugar; causando destrucción e inundación de bosques nativos, turberas y pastizales, modificando los cursos de agua, afectando el ciclo hidrológico y químico en las cuencas

afectadas y provocando incapacidad de retención de carbono por parte de bosques y turberas (MMA, 2018a).

Debido a lo anterior, el castor es considerado una especie invasora en la Región de Magallanes y Antártica Chilena, se le considera como especie dañina a nivel nacional según la ley N° 19.473/96 y el reglamento D.S 05 del Ministerio de Agricultura (Chile, 1998). Esta categoría se establece según los daños y perjuicios causados en los bosques magallánicos, donde se incluyen especies como el coigüe de Magallanes (*Nothofagus betuloides*), lenga (*Nothofagus pumilio*) y ñirre (*Nothofagus antartica*) (Soto y Soza-Amigo, 2014; Graells *et al.*, 2015).

Se ha estimado que la abundancia de castores en Chile podría estar entre 70.000 y 110.000 individuos, los cuales han colonizado casi todos los arroyos y ríos de la isla, tanto en territorio argentino como el chileno. Incluso se ha reportado que sólo el 28% de los predios ganaderos de la Isla de Tierra del Fuego no tendrían presencia de castores (MMA, 2018b). El contacto entre los habitantes de la Patagonia y estos roedores aumenta cada día; *C. canadensis* al ser una especie invasora, amplía rápidamente su rango de distribución y densidad poblacional hacia lagunas, canales y ríos. Estos recursos que son utilizados a diario por las personas de la isla, pudiesen ser fuente de infección de parásitos como *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp., ambos descritos en *C. canadensis* en Norteamérica como agentes zoonóticos transmisibles a través del agua (Fayer *et al.*, 2006).

## **Parásitos y zoonosis**

### ***Giardia* spp.**

*Giardia* es un protozoo de la familia Hexamitidae (Sarcomastigophora, Diplomonadida), en el que se describen diferentes especies, entre ellas *Giardia duodenalis*, *Giardia muris* y *Giardia agilis*. Es un parásito intestinal frecuente en humanos, mamíferos domésticos y silvestres en todo el mundo. Las manifestaciones clínicas de la giardiosis son muy variables y van desde la ausencia de síntomas a diarrea aguda o crónica, deshidratación, dolor abdominal, náuseas, vómitos y pérdida de peso (Feng y Xiao, 2011; Ryan y Caccio, 2013).

El ciclo de vida de *Giardia* spp. es directo e involucra dos etapas principales; el trofozoíto, que es la forma replicativa parásita, y el quiste, que es la forma ambiental infectante (Feng y Xiao, 2011). Tanto los trofozoítos como los quistes salen con las deposiciones del hospedero, pero son estos últimos los que permanecen viables durante meses en áreas frías y húmedas, acumulándose rápidamente en el ambiente siendo inmediatamente infectantes (Feng y Xiao, 2011; Noemí y Atías, 2011). Al ser ingeridos los quistes, sus envolturas se disuelven por la acción de los jugos digestivos, liberando los trofozoítos (Noemí y Atías, 2011).

Dentro de las diferentes especies de *Giardia* spp., *G. duodenalis* tiene el rango de hospedadores más amplio, afectando a humanos y la mayoría de los mamíferos domésticos y silvestres a nivel mundial (Thompson, 2004; Feng y Xiao, 2011). Hasta la fecha se han identificado ocho genotipos principales en *G. duodenalis*, denominados de la A a la H, dos de los cuales (A y B) se encuentran tanto en humanos como en animales domésticos, además de varias especies de vida silvestre (Ryan y Caccio, 2013; Chhabra y Muraleedharan, 2016). El genotipo A se localiza frecuentemente en ganado y animales de compañía, mientras que el genotipo B se notifica con menos frecuencia en animales domésticos. El tipo A y en menor medida, el tipo B se encuentran comúnmente en animales silvestres, a excepción de los castores y las ratas almizcleras (*Ondatra zibethicus*) que tienen una alta frecuencia de *G. duodenalis* tipo B (Feng y Xiao, 2011).

La aparición de *Giardia* spp. en la fauna silvestre acuática, en particular de aislamientos que son morfológicamente idénticos a la especie *G. duodenalis*, ha sido la evidencia más importante que implica a *Giardia* como agente zoonótico. De hecho, se ha demostrado la ocurrencia común de *G. duodenalis* tipo B en castores y ratas almizcleras. Fue la asociación entre los animales infectados, como los castores y los brotes transmitidos por el agua en las personas, lo que llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1979 a clasificar a *Giardia* como un parásito zoonótico (Thompson, 2004). Sin embargo, hay poca evidencia que implique a estos animales como la fuente contaminante original en los brotes transmitidos por el agua. Se ha sugerido que estos animales tienen más probabilidades de infectarse con agua contaminada con material fecal humano, es decir, una antropozoonosis, en donde el origen del contagio proviene del humano (Feng y Xiao, 2011).

Por lo tanto, los castores que contraen la infección al ingerir accidentalmente *Giardia* spp. de origen humano o animales domésticos, son capaces de mantener y amplificar este agente zoonótico, aumentando el número de quistes en las cuencas hidrográficas en donde habita (Thompson *et al.*, 2010; Thompson, 2013).

### ***Cryptosporidium* spp.**

*Cryptosporidium* es un protozoo de la familia Cryptosporiidae (Apicomplexa, Eucoccidiorida). En la actualidad se describen varias especies de *Cryptosporidium*, donde las mejores caracterizadas son *Cryptosporidium baileyi*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium muris* y *Cryptosporidium parvum*. Al igual que *Giardia* spp., es un parásito asociado a enfermedades entéricas en personas y animales en todo el mundo. El ciclo de vida de *Cryptosporidium* incluye fases asexuales de proliferación y una fase sexual de reproducción. Los ooquistes se liberan en las heces inmediatamente infectantes y pueden sobrevivir de forma prolongada en el medio ambiente (Hunter y Thompson, 2005). La reinfección se logra, ya sea cuando se ingieren los ooquistes desde el medio ambiente o también es posible cuando los ooquistes de pared delgada se rompen dentro del tracto intestinal, fenómeno conocido como autoinfección (Jenkins *et al.*, 2013).

Después de ingerir ooquistes a través del consumo de agua, alimentos contaminados o por medio del contacto directo con personas o animales infectados, se liberan esporozoitos en el intestino delgado e invaden las células epiteliales. Dos ciclos asexuales producen de cuatro a ocho merozoitos. Los merozoitos de la segunda etapa se convierten en estadios sexuales masculinos o femeninos y la fertilización da lugar a la formación de ooquistes (Fayer y Xiao, 2008). La infección tiene características que lo hacen fácilmente difundible como es el pequeño tamaño de los ooquistes, la baja dosis infectante, el prolongado tiempo de excreción de los ooquistes luego del cuadro diarreico, la alta resistencia a condiciones climáticas y a la mayoría de los desinfectantes (Zanaro y Garbossa, 2008; Weitz y Tassara, 2011).

La criptosporidiosis es la enfermedad gastrointestinal informada con más frecuencia en brotes asociados con el agua recreativa tratada en los EE. UU. Esto se puede atribuir en parte a una dosis infectante inusualmente baja; la ingestión de tan solo ooquiste de

*Cryptosporidium* spp. podría ser suficiente para causar enfermedad, sobretodo en individuos inmunocomprometidos (Efstratiou *et al.*, 2017). Además, los eventos climáticos severos, que incluyen fuertes lluvias e inundaciones en los ríos, están en aumento en todo el mundo y es probable que causen epidemias de gastroenteritis transmitida por el agua (Gertler *et al.*, 2015).

En la fauna silvestre la criptosporidiosis se considera importante si la salud pública y veterinaria se ven afectadas directamente por la contaminación del agua o los pastos. La contaminación ambiental con heces de origen humano se postula como una vía potencial para las infecciones de fauna silvestre con parásitos zoonóticos como *Cryptosporidium* spp., lo que amplifica la contaminación ambiental y pone a las poblaciones de la vida silvestre en un riesgo potencial (Appelbee *et al.*, 2005). Una especie recientemente descrita es *Cryptosporidium ubiquitum*, parásito zoonótico emergente con amplia distribución geográfica y amplio rango de hospedadores. De todas las especies de *Cryptosporidium*, es la que infecta a una mayor variedad de hospedadores y dentro de éstos, se encuentran tanto humanos como castores (Li *et al.*, 2014).

En Chile se llevó a cabo el proyecto “Fortalecimiento y Desarrollo de Instrumentos para el Manejo, Prevención y Control del Castor (*Castor canadensis*), una Especie Exótica Invasora en la Patagonia Chilena” financiado por el Global Environment Facility (GEF), en donde se contempló la labor de guardaparques del Parque Natural Karukinka y técnicos en control de especies exóticas, los cuales trampearon y monitorearon constantemente diferentes zonas en Tierra del Fuego manteniendo contacto directo con los castores. Sin embargo, en la actualidad no existen reportes ni estudios con respecto a los dos parásitos zoonóticos anteriormente mencionados para *C. canadensis* en nuestro país. Es por lo anterior, que es fundamental recopilar información y determinar la presencia de estos agentes en castores, para así establecer medidas de bioseguridad frente a los diferentes manejos a realizar, además de hacer énfasis en el potencial riesgo de contaminación de cuencas y cursos de agua en la Región de Magallanes y Antártica Chilena.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Identificar *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en heces de *Castor canadensis* en el Parque Natural Karukinka, Tierra del Fuego, Chile.

### **Objetivos específicos**

1. Determinar la presencia de *Giardia* spp. en heces de castores.
2. Determinar la presencia de *Cryptosporidium* spp. en heces de castores.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta memoria de título se enmarcó dentro del convenio de cooperación entre la Wildlife Conservation Society y FAVET (2013), con el fin de aportar al “Proyecto de Fortalecimiento y desarrollo de instrumentos para el manejo, prevención y control del castor (*Castor canadensis*), una especie exótica invasora en Patagonia Chilena”, programa financiado por el Global Environment Facility (GEF), ejecutado por el Ministerio del Medio Ambiente (MMA) y SEREMI del Medio Ambiente de la Región de Magallanes y Antártica Chilena e implementado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), con la colaboración del Servicio Agrícola Ganadero (SAG), la Corporación Nacional Forestal (CONAF) y la Wildlife Conservation Society (WCS).

El presente estudio fue certificado por el Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Anexo 1) y por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile (Anexo 2).

### **Área de estudio**

En este estudio se utilizaron muestras de heces de castores capturados con trampas Conibear #330 en áreas piloto del proyecto GEF, correspondientes al sector Valle La Paciencia y Río Marazzi. Sin embargo, este último punto no se encuentra dentro del Parque Natural Karukinka y corresponde a un área ubicada en la zona centro-norte de Tierra del Fuego. Otro punto que se trampeó es el sector Vicuña, entrada principal al parque (Anexo 3).

### **Toma de muestras**

La captura y toma de muestras de heces de los roedores fueron realizadas durante los meses de primavera-verano desde 2017 a 2019. Las muestras se obtuvieron desde los cadáveres, directamente desde el segmento terminal del intestino grueso o recto. Aunque si bien, se trampearon y monitorearon constantemente estas áreas, no todos los castores capturados fueron sometidos a muestreo. La actividad fue realizada por personal de WCS,

principalmente guardaparques del Parque Natural Karukinka y estudiantes de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, de la Universidad de Chile.

Las trampas Conibear #330 son trampas letales aprobadas por la International Humane Trapping Standards (Canadá), las cuales matan por golpe inmediatamente al animal, generando menor sufrimiento (Mann, 2008). Las trampas fueron ubicadas por guardaparques del Parque Natural Karukinka y por técnicos en control de especies exóticas, en lugares estratégicos cercanos a sus áreas de influencia, zonas llamadas comúnmente “castoreras” o madrigueras activas, en donde se observan construcciones de diques o movimientos recientes en el terreno (huellas, rastros, árboles cortados, etc) (Skewes *et al.*, 1999). Una vez que el animal era atrapado, debía ser retirado por guardaparques, para luego realizar el procedimiento descrito en el Protocolo Simplificado Muestreo *C. canadensis* (Anexo 4).

Para la toma de muestras se utilizó: bisturí, pinzas, tijeras, cuchillos, tubos cónicos de 50 mL y 15 mL (tipo Falcon®) previamente rotulados, guantes, mascarillas, etanol 70% y bolsas de basura. Una vez que localizada la parte abdominal del animal, se procedió a ubicar el intestino grueso en su porción terminal (colon descendente), para sacar un bolo de heces de 2 cm<sup>2</sup>, para luego ser colocado en un tubo Falcon® de 50 mL con etanol a 70%. Las muestras se almacenaron a temperatura de refrigeración hasta que fueron transportadas a la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, específicamente al Laboratorio de Parasitología. En cada tubo se rotuló la identificación del individuo y además se completó una ficha con datos del castor (peso, tamaño, coordenadas GPS, fecha trampeo, fecha captura, descripción inspección interna y externa; Anexo 5).

### **Análisis de laboratorio**

Todas las muestras se analizaron a través de un examen coproparasitario de concentración, utilizando Telemann modificado y posterior tinción con lugol para pesquisar quistes de *Giardia* spp. En tanto que para identificar los ooquistes *Cryptosporidium* spp. se utilizó posterior a la concentración, la tinción Ziehl-Neelsen modificado. Para el procesamiento y análisis se utilizaron: guantes desechables talla S, frascos plásticos, coladores, bandejas,



tubos Falcon® 15 mL, porta y cubre objetos, bandejas metálicas, pinzas, etanol al 70%, éter al 99,9%, fucsina, azul de metileno, alcohol ácido, lugol, muestras de heces, centrifuga y microscopio.

### **Técnica de Telemann modificado**

Esta técnica se utilizó para detectar la presencia de quistes de *Giardia* spp. Para empezar, las muestras se tamizaron a través de una malla metálica, dejando un total de 10 mL de muestra dentro del tubo Falcon® de 15 mL, luego se agregaron 2 mL de éter etílico (99,9%), obteniendo 12 mL totales. Se procedió a centrifugar a 1.500 rpm por 10 minutos. A continuación, se eliminó el sobrenadante y se recolectaron 100 µL del sedimento para depositarlos sobre el portaobjetos adicionando 50 µL de lugol. Finalmente, se colocó un cubreobjetos sobre la muestra para examinarla con un microscopio óptico, usando el objetivo de 40x (Mercado *et al.*, 2011).

Para la identificación de *Giardia* spp. se utilizó un criterio basado en 3 parámetros: tamaño (8 a 12 µm de largo por 7 a 10 µm de ancho), forma (ovalada) y estructura (doble membrana quística, cuatro núcleos y filamentos correspondientes a restos flagelares) (Attilio De Carli, 2001; Noemí y Atías, 2011). Las muestras se consideraron positivas si cumplían con estos 3 criterios simultáneamente.

### **Técnica de Ziehl-Neelsen modificada**

Para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se utilizó la tinción de Ziehl-Neelsen. Esta tinción se realizó luego del procesamiento de la muestra por la técnica de Telemann modificada. Con una tórula, se obtuvo desde el sedimento una cantidad de muestra para hacer un extendido de 1 cm<sup>2</sup> sobre un portaobjeto, se dejó secar por 20 minutos para luego ser teñido. Para la tinción se cubrió cada portaobjeto con fucsina y se calentó pasando por debajo de los portaobjetos un algodón con alcohol encendido, hasta que emitió vapor. La fucsina se dejó actuar por 20 minutos, posteriormente las muestras se lavaron con agua corriente para eliminar todo exceso de colorante. A continuación, se decoloraron con alcohol ácido por 30 segundos, y nuevamente fueron lavadas para eliminar el excedente. Después se

aplicó la solución de azul de metileno por 1 minuto y nuevamente se eliminó el exceso de colorante con agua. Para terminar, los portaobjetos se dejaron secar a temperatura ambiente, para ser observados al microscopio óptico con objetivo de 100x utilizando aceite de inmersión (Mercado *et al.*, 2011).

Para la identificación de *Cryptosporidium* spp. también se utilizó un criterio basado en 3 parámetros: color (fucsia), tamaño (3 a 8,5  $\mu\text{m}$ ) y forma (esférica u ovalada) (Fayer y Xiao, 2008). Las muestras se consideraron positivas si cumplían con estos 3 criterios simultáneamente.

### **Análisis estadístico**

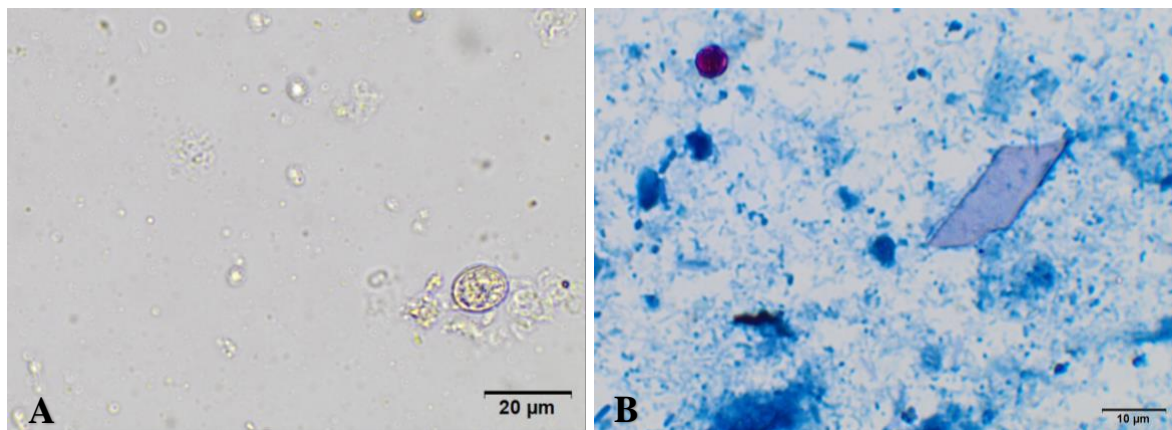
Para el análisis de los resultados obtenidos a través de los métodos Telemann modificado, tinción con lugol y Ziehl-Neelsen modificado se utilizó estadística descriptiva. Se analizó la proporción de positivos y negativos con una tabla de frecuencias.

## RESULTADOS

En el presente estudio se obtuvo un total de 105 muestras, de las cuales 18 (17,14%) resultaron positivas a algún parásito en estudio y de ellas, 15 (14,28%) fueron positivas a quistes de *Giardia* spp. analizadas a través de la técnica Telemann modificado y tinción con lugol, así como 3 (2,87%) resultaron positivas a ooquistes *Cryptosporidium* spp. utilizando la tinción Ziehl-Neelsen modificado (**Tabla 1**) (**Figura 1**).

**Tabla 1.** Número de muestras positivas y negativas a estructuras compatibles con *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en *Castor canadensis* de Tierra del Fuego.

CASTOR ( <i>Castor canadensis</i> )	MUESTRAS TOTAL	POSITIVOS	NEGATIVOS	% POSITIVIDAD
<i>Giardia</i> spp.	105	15	90	14,28%
<i>Cryptosporidium</i> spp.	105	3	102	2,87%



**Figura 1. A y B:** Imágenes de muestras de heces de *Castor canadensis* de Tierra del Fuego, Chile. **A:** Quiste de *Giardia* spp. al microscopio óptico con objetivo 40x. **B:** Ooquiste de *Cryptosporidium* spp. al microscopio óptico con objetivo 100x.

## DISCUSIÓN

La presente memoria de título permitió pesquisar y detectar la presencia de los parásitos *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en castores en Parque Natural Karukinka y Río Marazzi en Tierra del Fuego, Región de Magallanes y Antártica Chilena, siendo la primera descripción para estos agentes en *C. canadensis* en Chile.

En este estudio un 14,2% de las muestras resultaron positivas a *Giardia* spp. y un 2,8% a *Cryptosporidium* spp. El bajo porcentaje de positividad para *Cryptosporidium* spp. revelaría que este agente presenta una baja prevalencia en *C. canadensis* en Tierra del Fuego, resultados que se correlacionan con los porcentajes descritos, que están en un rango 2-18% de positividad para castores (Feng *et al.*, 2007; Ziegler *et al.*, 2007; Feng, 2010). Sin embargo, los métodos de diagnóstico utilizados en las publicaciones anteriores corresponden principalmente a técnicas inmunológicas, las que difieren a la utilizada en esta memoria, la que posiblemente puede no detectar a todos los individuos positivos por la menor sensibilidad de la prueba y los resultados obtenidos pueden no reflejar correctamente la realidad (Fayer y Xiao, 2008).

El porcentaje de positividad para *Giardia* spp. en este estudio es menor al 23-30% reportado en *C. canadensis* en Norteamérica (Dunlap y Thies, 2002; Fayer *et al.*, 2006). Es probable que los castores de Tierra del Fuego tengan una menor positividad, puesto que se describe que la principal fuente de infección para estos roedores es la contaminación ambiental con *Giardia* de origen humano y/o animales domésticos (Thompson, 2013) y los lugares muestreados en esta memoria son generalmente áreas alejadas de la urbanización. Por otro lado y al igual que con *Cryptosporidium*, las técnicas de análisis utilizadas difieren de la bibliografía revisada, en las cuales se usan pruebas diagnósticas más sensibles como por ejemplo la microscopía de inmunofluorescencia (Dunlap y Thies, 2002).

Debido a su impacto significativo en la salud pública *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp., han sido monitoreados en aguas superficiales para evaluar la calidad microbiana de los cuerpos de agua utilizados para la producción de agua potable y/o con fines recreativos (Burnet *et al.*, 2014). Por lo anterior sería importante incluir la detección de estos protozoos zoonóticos como indicadores de calidad de agua en Chile, ya que ambos organismos se

transmiten a través de la ingestión directa de las heces o por la ingestión de alimentos o agua contaminados (Monis y Thompson, 2003). Además, ambos agentes resisten prolongados periodos en el medio ambiente (Weitz y Tassara, 2011; Ryan y Caccio, 2013). La contaminación ambiental con materia fecal humana y de animales domésticos se reconoce como vía de infección en fauna silvestre y una de las especies silvestres actualmente considerada reservorio y amplificador de enfermedades zoonóticas es el castor (Appelbee *et al.*, 2005; Thompson, 2013). Por otro lado, en diversos estudios en donde se buscaba conocer el potencial zoonótico de los castores, se recolectaban muestras directamente del animal como también del medio ambiente, especialmente en cuencas hidrográficas donde habita este roedor y los resultados detectaron que sí existía contaminación fecal por *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. (Feng y Xiao, 2011; Marti *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014). Sin embargo, la detección de estos parásitos en el agua no es fácil y no es un procedimiento de rutina, puesto que implica métodos de diagnóstico complejos y costosos (Smith y Nichols, 2010). En el caso de *Cryptosporidium* spp. los ooquistes se encuentran en bajos niveles de concentración en el agua, por lo que es necesario implementar protocolos capaces de recuperarlos y concentrarlos eficientemente (Fredes, 2015).

En cuanto al análisis de resultados, si bien la microscopía ha sido útil para identificar muchos organismos a niveles genéricos o de taxonomía superior, ni las características morfológicas ni la aplicación de reactivos de inmunofluorescencia han demostrado ser suficientes para la identificación o diferenciación de las múltiples especies de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. (Fayer *et al.*, 2006). Solo a través de la integración de herramientas diagnósticas moleculares y epidemiológicas se puede mejorar la comprensión de la importancia de la transmisión zoonótica en la epidemiología de *Giardia* y *Cryptosporidium* en humanos (Feng y Xiao, 2011). Los métodos moleculares altamente sensibles y específicos han demostrado ser útiles para la detección de parásitos de dos maneras: cuando el número de parásitos es tan bajo que los métodos microscópicos no los detectan, y cuando los organismos morfológicamente idénticos pueden distinguirse solo mediante la identificación de diferencias genética (Fayer *et al.*, 2006). Por lo tanto, además de los métodos microscópicos clásicos y más utilizados, y debido a la importancia potencial de los castores como fuentes de patógenos transmitidos por el agua, sería fundamental realizar estudios moleculares para

determinar la identidad de cualquier especie de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. excretados por estos roedores en Tierra del Fuego.

Como ya ha sido señalado, los castores en Norteamérica son animales comunmente relacionados a la transmisión zoonótica de agentes transmitidos por agua (Fayer *et al.*, 2006; Feng y Xiao, 2011). Sin embargo, la principal fuente de infección para estos roedores es producto de actividades humanas y de animales domésticos, y estos roedores actúan como reservorios y amplificadores de patógenos zoonóticos (Thompson *et al.*, 2010; Thompson, 2013). Durante mucho tiempo se ha especulado que los animales silvestres que habitan en cuencas hidrográficas de fuente potable, especialmente los roedores acuáticos como castores y ratas almizcleras, pueden tener un papel en la transmisión por agua de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. a humanos, ganado, o mascotas domésticas (Appelbee *et al.*, 2005; Feng, 2010), por lo que sería interesante analizar lo que ocurre en Patagonia, dado que en la actualidad habitan tres especies invasoras que coexisten en un mismo hábitat acuático: castor (*Castor canadensis*), rata almizclera (*Ondatra zibethicus*) y visón (*Neovison vison*), las cuales interactúan y potencian sus impactos negativos en los ecosistemas locales (Crego *et al.*, 2016). Dentro de las especies anteriormente mencionadas, el castor y la rata almizclera han sido involucradas en transmisiones zoonóticas en Norteamérica (Appelbee *et al.*, 2005; Feng, 2010; Feng y Xiao, 2011) y al convivir en el mismo ambiente se dan las condiciones necesarias para seguir actuando como reservorios y amplificadores zoonóticos. Además, es probable que estos agentes se encuentren en otras especies silvestres que habiten en cercanías de lagunas, madrigueras y diques utilizados por *C. canadensis*. Esta información debiera tomarse en cuenta en futuras investigaciones y a partir de esto tomar decisiones preventivas con el fin de proteger la salud de las personas y también de la fauna nativa y endémica de la región.

Si bien esta memoria tenía como objetivo determinar presencia de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en heces de castores, al agrupar los resultados y analizar ciertas variables como: edad, lugar de muestreo y sexo, se observaron ciertas tendencias. Por ejemplo al comparar los resultados positivos para ambos patógenos con respecto a la variable edad (juveniles y adultos), se observó casi un doble de positividad en individuos juveniles, sin embargo, esta tendencia ya ha sido descrita previamente en los EE. UU por Dunlap y

Thies (2002) para *Giardia* spp. y por Ziegler *et al.*, (2007) para *Cryptosporidium* spp en *C. canadensis*. En cuanto a la zona de muestreo, se observó mayor positividad para *Giardia* spp. en el Sector Río Marazzi, esta zona en su mayoría corresponde a propiedad privada que tiene como principal actividad la ganadería (MMA, 2018a). Thompson (2013) describe que las fuentes de infección zoonótica de *Giardia* en la vida silvestre se consideran el resultado de la contaminación ambiental con *Giardia* de humano o animales domésticos, principalmente del ganado, por lo que en base a esto podrían explicarse los resultados. Por último, las muestras se organizaron según sexo y para ambos protozoos se observó un mayor porcentaje de positividad en castores hembras, sin embargo, no hay bibliografía que describa asociación entre sexo y probabilidad de infección, tanto para *Giardia* spp. como para *Cryptosporidium* spp. En base a lo anterior, es importante seguir investigando, recopilando y analizando muestras de heces de *C. canadensis*, para así comprobar si existe asociación entre diferentes variables.

Finalmente los resultados del presente estudio permitieron la detección de 15 muestras positivas a quistes de *Giardia* spp. y 3 a ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en 105 muestras extraídas directamente desde castores de Tierra del Fuego y confirman la presencia de estos agentes zoonóticos en *C. canadensis* de la Región de Magallanes y Antártica Chilena, con un nivel de infección total de 17,14% para ambos agentes parasitarios.

## CONCLUSIONES

1. Existe presencia tanto de *Cryptosporidium* spp. como de *Giardia* spp. en castores de Tierra del Fuego, obteniendo un mayor porcentaje de positividad el último agente mencionado. Lo anterior corresponde a la primera descripción de estos parásitos para esta especie en Chile.
2. Las cargas parasitarias de las muestras analizadas fueron bajas para ambos agentes zoonóticos (menos de 5 elementos por campo microscópico). Sin embargo, esto no deja de ser menos importante epidemiológicamente, dado que ambos protozoos poseen una baja dosis infectante con gran resistencia a las condiciones ambientales (Feng *et al.*, 2007; Ryan y Caccio, 2013).
3. Es necesario identificar a qué especie/genotipo corresponden los agentes encontrados, a través de técnicas moleculares para así dilucidar cuál es su posible fuente de origen e implementar programas de control y prevención más efectivos en la transmisión de enfermedades zoonóticas en Tierra del Fuego.
4. Es fundamental continuar investigando a esta especie exótica invasora, como también realizar monitoreos ambientales en las zonas de mayor confluencia castor-humana. Las cuencas hidrográficas son vulnerables a la contaminación con patógenos zoonóticos y no zoonóticos de la vida silvestre, por lo que la detección sensible de quistes de *Giardia* spp. y ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en el agua y su identificación son esenciales para la gestión de las fuentes de agua y la evaluación de riesgos.
5. Es importante informar y educar a las personas que se encuentren en contacto (directo o indirecto) con los castores, respecto a enfermedades zoonóticas, vías de transmisión, prevención y control.



## **BIBLIOGRAFÍA**

**ANDERSON, C.; PASTUR, G.; LENCINAS, M.; WALLEM, P.; MOORMAN, M.; ROSEMOND, A.** 2009. Do introduced North American beavers *Castor canadensis* engineer differently in southern South America? an overview with implications for restoration. *Mammal Rev.* 39(1): 33-52.

**APPELBEE, A.; THOMPSON, A.; OLSON, M.** 2005. Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends Parasitol.* 21(8): 370-376.

**ATTILIO DE CARLI, G.** 2001. *Parasitología Clínica.* 5ª Edición Atheneu. Sao Paulo, Brasil. 615pp.

**BALDINI, A.; OLTREMARI, J.; RAMÍREZ, M.** 2008. Impacto del castor (*Castor canadensis*, Rodentia) en bosques de lenga (*Nothofagus pumilio*) de Tierra del Fuego, Chile. *Bosque* 29(2): 162-169.

**BURNET, J-B.; PENNY, C.; OGORZALY, L.; CAUCHIE, H.** 2014. Spatial and temporal distribution of Cryptosporidium and Giardia in a drinking water resource: Implications for monitoring and risk assessment. *Sci. total. Environ.* 472: 1023-1035

**CHHABRA M.; MURALEDDHARAN K.** 2016. Parasitic Zoonoses and Role of Wildlife: An Overview. *Vet. Res. Int.* 4(1): 01-11

**CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA.** 1998. Decreto N°05 Reglamento Ley de Caza. 9 enero 1998.

**CREGO, R.; JIMÉNEZ, J.; ROZZI, R.** 2016. A synergistic trio of invasive mammals? Facilitative interactions among beavers, muskrats, and mink at the southern end of the Americas. *Biol. Invasions.* 18(7): 1923-1938

**DUNLAP, B.; THIES, M.** 2002. Giardia in Beaver (*Castor canadensis*) and Nutria (*Myocastor coypus*) From East Texas. *J Parasitol* 88(6): 1254-1258

**EFSTRATIOU, A.; ONGERTH, J.; KARANIS, P.** 2017. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks – An update 2011-2016. *Water Res.* 114: 14-22

**FAYER, R.; SANTIN, M.; TROUT, J.; DE STEFANO, S.; KOENEN, K.; KAUR, T.** 2006. Prevalence of Microsporidia, *Cryptosporidium* spp., and *Giardia* spp. in beavers (*Castor canadensis*) in Massachusetts. *J Zoo Wildl Med.* 37:492–497

- FAYER, R. Y XIAO, L.** 2008. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. 2nd ed. CRC Press. United States, pp 576.
- FENG, Y.; ALDERISIO, K.; YANG, W.; BLANCERO, A.; KUHNE, G.; NADARESKI, A.; XIAO, L.** 2007. Cryptosporidium genotypes in Wildlife from a New York Watershed. *Appl. Environ. Microbiol.*73(20): 6475-6483
- FENG, Y.** 2010. Cryptosporidium in wild placental mammals. *Exp. Parasitol.* 124(1): 128-127
- FENG, Y.; XIAO, L.** 2011. Zoonotic Potential and Molecular Epidemiology of Giardia Species and Giardiasis. *Clin. Microbiol Rev.* 24(1): 110–140
- FREDES, F.** 2015. Detección y caracterización de *Cryptosporidium* spp. mediante métodos tradicionales y PCR en diferentes matrices (heces y agua). Tesis doctoral. Córdoba, España. Universidad de Córdoba, Biociencias y Ciencias Agroalimentarias. 151 p.
- GERTLER, M.; DÜRR, M.; RENNER, P.; POPPERT, S.; ASKAR, M.; BREIDENBACH, J.; FRANK, C.; PREUBEL, K.; SCHIELKE, A.; WERBER, D.; CHALMERS, R.; ROBINSON, G.; FEUERPEIL, I.; TANNICH, E.; GRÖGER, C.; STARK, K.; WILKING, H.** 2015. Outbreak of *Cryptosporidium hominins* following river flooding in the city of Halle (Saale). *BMC Infect. Dis.* 15(1): 15-88.
- GRAELLS, G.; CORCORAN, D.; ARAVENA, J.** 2015. Prospección y datación de la fecha de colonización del área del Río Hollemborg, provincia de Última Esperanza, el punto más septentrional de presencia de *Castor canadensis* (Castoridae) en Sudamérica. *Anales Del Instituto de La Patagonia.* 43(2): 61-77.
- HUNTER, P.; THOMPSON, A.** 2005. The zoonotic transmission of Giardia and Cryptosporidium. *Int J Parasitol.* 35(11-12): 1181-1190.
- JENKINS, E.; CASTRODALE, L.; SIMONE, J. DIXON, B.; ELMORE, S.; GESY, K; THOMPSON, A.** 2013. Tradition and transition: Parasitic zoonoses of People and animals in Alaska, Northern Canada, and Greenland. *Adv. Parasitol.* 2: 33-204.
- LI, N.; XIAO, L., ALDERISIO, K.; ELWIN, K.; CEBELINSKI, E.; CHALMERS, R.; SANTIN, M.; FAYER, R.; KVIC, M.; RYAN, U.; SAK, B.; STANKO, M.; GUO, Y.; WANG, L.; ZHANG, L.; CAI, J.; ROELLING, D.; FENG, Y.** 2014. Subtyping *Cryptosporidium ubiquitum*, a Zoonotic Pathogen Emerging in Humans. *Emerg Infect Dis.* 20(2): 217-224.

- MACKENSTEDT, U.; JENKINS, D.; ROMIG, T.** 2015. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *Int J Parasitol: Parasites and Wildlife* 4(1): 71-79
- MANN, A.** 2008. Vertebrados dañinos en Chile: desafíos y perspectivas. Actas del seminario taller. 8 de enero de 2008. Santiago, Chile. Universidad Santo Tomás. pp. 109.
- MARTI R.; ZHANG Y.; TIEN Y.; LAPEN D.; TOPP E.** 2013. Assessment of a new Bacteroidales marker targeting North American beaver (*Castor canadensis*) fecal pollution by real-time PCR. *J Microbiol Methods* 95: 201–206
- MERCADO, R; MUÑOZ, V; LORCA, M; GARCIA, A.** 2011. Métodos de diagnóstico Directo. **In:** Atías, A. Parasitología Médica. Ed. Mediterráneo. Santiago. pp. 561-570
- MMA (MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE).** 2018a. Conservando los Ecosistemas de la Patagonia Chilena. GEF castor. [en línea] < <https://gefcastor.mma.gob.cl> > [consulta: 14-12-2018]
- MMA (MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE).** 2018b. Proyecto busca proteger los ecosistemas de Tierra del Fuego amenazados por el castor. [en línea] < <http://portal.mma.gob.cl/proyecto-busca-protger-los-ecosistemas-de-tierra-del-fuego-amenazados-por-el-castor/> > [consulta: 14-12-2018]
- MONIS, P.; THOMPSON, A.** 2003. Cryptosporidium and Giardia-zoonoses: factor fiction? *Infect. Genet. Evol.* 3(4): 233-244
- NOEMÍ, I.; ATÍAS, A.** 2011. Giardiasis. **In:** Atías, A. Parasitología Médica. Ed. Mediterráneo. Santiago, Chile. pp. 134-141
- PIETREK, A.; FASOLA, L.** 2014. Origin and history of the Beaver introduction in South America. *Mastozoo. Neotrop.* 21(2): 355-359.
- RYAN U.; CACCIO S.** 2013. Zoonotic potential of Giardia. *Int J Parasitol.* 43(12-13): 943-956.
- SMITH, H.; NICHOLS, R.** 2010. Cryptosporidium: detection in water and food. *Exp. Parasitol.* 124(1): 61-79
- SKEWES, O.; GONZÁLEZ, F.; RUBILAR, L.; QUEZADA, O.; OLAVE, R.; VARGAS, V.; ÁVILA, A.** 1999. Investigación, aprovechamiento y control del castor en islas Tierra del Guego y Navarino. Punta Arenas, Chile. Servicio de Gobierno Regional XII Región, Magallanes y Antártica Chilena. pp. 185.

- SOTO, A.; SOZA-AMIGO, A.** 2014. Valoración económica del bosque nativo afectado por la introducción del castor americano en Tierra del Fuego. *Bosque* 35(2): 229-234.
- TADICH, T.; NOVARO, A.; KUNZLE, P.; CHACON, M.; BARRIENTOS, M.; BRICEÑO, C.** 2018. Agonistic behavior between introduced Beaver (*Castor canadensis*) and endemic culpeo fox (*Pseudalopex culpaeus lycoides*) in Tierra del Fuego Island and implications. *Acta Ethol.* 21: 29-34
- THOMPSON, A.** 2004. The zoonotic significance and molecular epidemiology of Giardia and giardiasis. *Vet. Parasitol.* 126(1-2): 15-35.
- THOMPSON, A.; KUTZ, S.; SMITH, A.** 2009. Parasite Zoonoses and Wildlife: Emerging Issues. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 6(2): 678-693.
- THOMPSON, A.; LYMBERY, J.; SMITH, A.** 2010. Parasites, emerging disease and wildlife conservation. *Int J Parasitol.* 40(10): 1163-1170.
- THOMPSON A.** 2013. Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *Int J Parasitol.* 43(12-13): 1079-1088.
- WALLEM, P.; JONES, C.; MARQUET, P.; JAKSIC, F.** 2007. Identificación de los mecanismos subyacentes a la invasión de *Castor canadensis* (Rodentia) en el archipiélago de Tierra del Fuego, Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 8(3): 309-325.
- WEITZ, J.; TASSARA, R.** 2011. Criptosporidiosis. **In:** Atías, A. *Parasitología Médica.* Ed. Mediterráneo. Santiago, Chile. pp. 146-151
- ZANARO, N.; GARBOSSA, G.** 2008. *Cryptosporidium*: cien años después. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 42(2): 195-201
- ZIEGLER, P.; WADE, D.; SCHAAF, S.; STERN, D.; NADARESKI, C.; MOHAMMED, H.** 2007. Prevalence of *Cryptosporidium* species in wildlife populations within a watershed landscape in southeastern New York State. *Vet. Parasitol.* 147(1-2): 176-184

## ANEXOS

### Anexo 1: Certificado Comité Bioseguridad FAVET

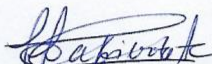


#### CERTIFICADO N° 142

Santiago, 23 mayo, 2019

El Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, ha revisado el proyecto de memoria de título, "PESQUISA DE Giardia spp. Y Cryptosporidium spp. EN CASTORES (Castor canadensis) DEL PARQUE NATURAL KARUKINKA, TIERRA DEL FUEGO, CHILE." De la alumna Srta. Gabriela Contreras B, cuyo Profesor Guía es el Dr. Cristóbal Briceño, académico de FAVET.

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

  
DRA. LISETTE LAPIÈRE A.  
Coordinadora  
Comité de Bioseguridad  
FAVET



## Anexo 2: Certificado Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA).



Santiago, 10 de julio de 2019

Certificado Nº: **19290-VET-UCH**

### CERTIFICADO

El Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile, certifica que en el Protocolo **14-2019**, del Proyecto de Investigación titulado: **“Estudio sanitario en castores (*Castor canadensis*) introducidos en Tierra del Fuego, Chile”**, del Investigador Responsable **Cristóbal Briceño Urzúa**, Profesor Asistente, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, no se plantean acciones en sus procedimientos que contravengan las normas de Bioética de manejo y cuidado de animales, así mismo la metodología experimental planteada satisface lo estipulado en el Programa Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile.

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

Se otorga la presente certificación para el uso de un total de **210** castores (*Castor canadensis*), animales de vida libre que se mantienen como especie introducida en Tierra del Fuego, Chile, desde julio de 2019 a abril de 2021, tiempo estimado de ejecución del estudio, el cual será financiado por **Convenio Wildlife Conservation Society – Chile y FAVET**.

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

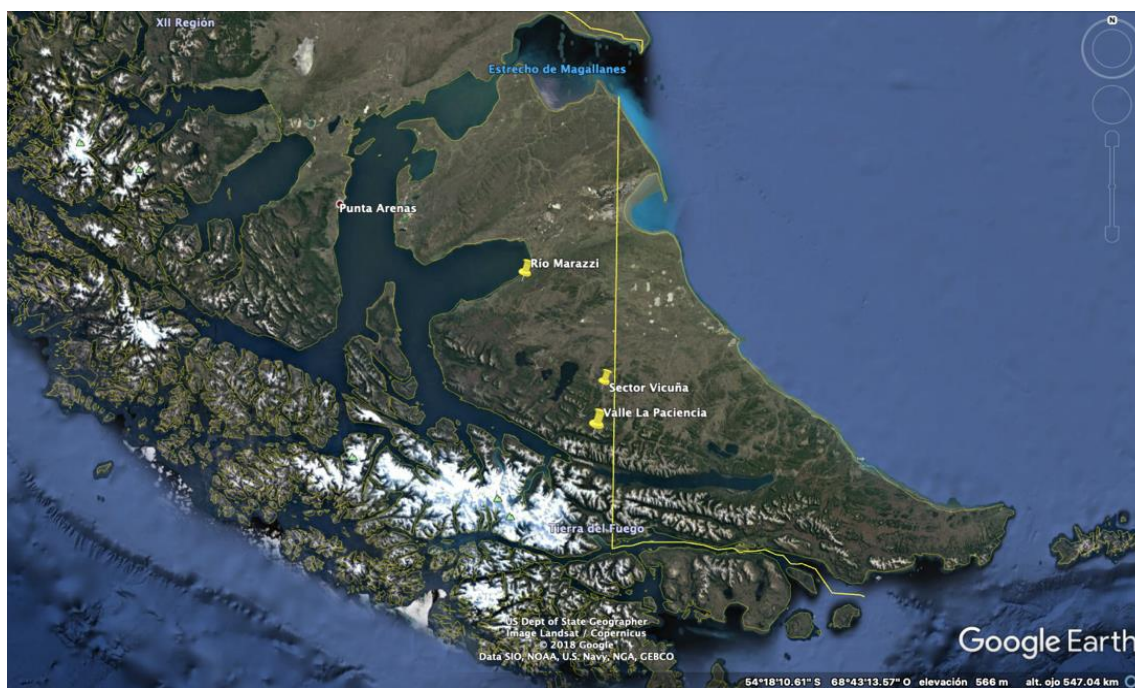
Ronald Vargas Casanova  
Director  
CICUA – VID  
Universidad de Chile



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

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

Anexo 3: Puntos geográficos pilotos correspondientes GEF Castor.



## Anexo 4: Protocolo Simplificado Muestreo *C. canadensis*



### PROTOCOLO SIMPLIFICADO MUESTREO *CASTOR CANADENSIS* PARQUE NATURAL KARUKINKA 2018-2019

El objetivo principal de este muestreo, es obtener una muestra de heces directamente desde recto del castor capturado por trampas Conibear.

#### 1. MATERIALES

- Ficha Muestreo Castor *canadensis*
- Plumón permanente punta fina
- Huincha métrica
- Balanza
- GPS
- Tubo Faloón estéril 50 ml
- Etanol 70%
- Guantes de látex
- Overol o delantal.
- Bolsa de basura.

Para la protección personal se debe usar como mínimo guantes de látex. Opcionalmente se puede utilizar un overol o delantal, para una mayor protección.

#### 2. REGISTRO DEL ANIMAL

Se le otorgará un número de identificación a cada animal el cual se establecerá según las iniciales de la especie a inspeccionar sumado a una numeración correlativa. Ejemplo: Castor *canadensis*, CC001. Adicionalmente se debe completar la Ficha Muestreo Castor *canadensis*, con los datos especificados.

Importante: registrar el punto de captura con GPS.

#### 3. PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS

El animal debe estar en una superficie plana, de espalda y completamente estirado. Se debe medir con una huincha de medir desde la punta de la nariz hasta la punta de la cola, además de medir el ancho en la zona más ancha del animal; para la medición de la cola, se debe medir desde la base de la cola hasta la zona más extrema de ésta, mientras que la medición del ancho, se obtiene de la zona más ancha de la cola. Estos datos deben ser registrados en "Centímetros" en la Ficha Muestreo Castor *canadensis*.

Para la obtención del peso, el animal se debe colgar, amarrado desde la base de la cola y puesto en la balanza. Este dato debe ser registrado en "Kilogramos" en la Ficha Muestreo Castor *canadensis*.



#### 4. TOMA DE MUESTRA Y ROTULACIÓN

Para la toma de muestra se debe iniciar con el animal de espaldas, realizando un corte longitudinal, a nivel de estómago. Se debe ubicar intestinos e identificar la porción terminal de intestino grueso (colon descendente). En esta zona se encuentra el contenido fecal formando bolos compactos, por lo que se debe realizar un corte con tijeras, extraer una muestra del bolo y depositarlo en un tubo Faloón 50 ml, preservada en etanol 70%.

El tubo será rotulado con las iniciales "Hc", seguido de la identificación del animal y la fecha de obtención de las heces (DD-MM-AA).

Luego de asegurarse que el tubo quede bien cerrado, se deposita en un cooler, en lo posible con bolsas de gel frío o "ice pack", para mantener las muestras a



#### 5. LIMPIEZA Y BIOSEGURIDAD

Una vez finalizado el muestreo, los restos del animal se depositarán en una fosa común, para de evitar que sea consumido por otro animal, ya sea doméstico o silvestre.

La vestimenta utilizada, como delantales desechables y guantes deben ser colocados en una bolsa de basura bien cerrada.

Finalmente se realizará una limpieza tanto de la superficie, como de los elementos utilizados que sean reutilizables como pinzas, con etanol 70%.



## Anexo 5: Ficha Muestreo *Castor canadensis*



### Ficha Muestreo *Castor canadensis* PARQUE NATURAL KARUKINKA 2018

#### IDENTIFICACIÓN:

Lugar de captura y coordenadas GPS:

Fecha trampeo:

Fecha captura:

Fecha necropsia:

Necropsia realizada por:

#### MEDIDAS

Largo total:

Largo cola:

Ancho total:

Ancho cola:

Peso:

**INSPECCIÓN EXTERNA** (Estado general, pelaje, piel, subcutáneo)

**INSPECCIÓN INTERNA** (Tórax, abdomen)

**SEXO** (Marcar con X): Macho ( ) Hembra ( )

**MUESTRAS** (Marcar con X y anotar en qué medio se almacena la muestra)

Hígado ( ):

Bazo ( ):

Riñón ( ):

Heces ( ):

**OBSERVACIONES:**