



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



DETECCIÓN DE *Cryptosporidium* spp. EN EL PINGÜINO DE
MAGALLANES (*Spheniscus magellanicus*) EN DOS PINGÜINERAS DE
LA REGIÓN DE MAGALLANES Y ANTÁRTICA CHILENA

CRISTÓBAL EMILIO ARREDONDO
ELIAS DE QUIROS

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

PROFESOR GUÍA: FERNANDO FREDES M.

SANTIAGO, CHILE
2014



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



DETECCIÓN DE *Cryptosporidium* spp. EN EL PINGÜINO DE
MAGALLANES (*Spheniscus magellanicus*) EN DOS PINGÜINERAS DE
LA REGIÓN DE MAGALLANES Y ANTÁRTICA CHILENA

**CRISTÓBAL EMILIO ARREDONDO
ELIAS DE QUIROS**

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

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : FERNANDO FREDES
PROFESOR CONSEJERO: GALIA RAMÍREZ
PROFESOR CONSEJERO: RUBÉN MERCADO

SANTIAGO, CHILE
2014

*Para mi abuelo Mateo Elias de Quiros,
porque todo viaje termina algún día,
gracias por tus consejos,
apoyo y ánimos permanentes...*

AGRADECIMIENTOS

Al final de este largo viaje, me gustaría agradecer a todas las personas que me apoyaron y ayudaron de múltiples maneras a finalizar este proceso:

Al Dr. Fernando Fredes, por darme la oportunidad de participar de este lindo proyecto, conocer lugares increíbles y de acercarme a lo que sueño para mi vida.

A Catherine Dougnac y Ángela Díaz, la mejor compañía en el “trabajo”, muchísimas gracias por ser mis guías en el día a día, sin ustedes, todavía estaría pensando en mi introducción...

A Patricio Toro, por hacer más ameno el laboratorio, por tu poca paciencia, las interminables risas y tu invaluable amistad.

A mis padres, Marco y Fabiola, por estar siempre, apoyarme y empujarme cuando fue necesario, para dar otro paso en este camino.

A Catalina Pardo, y a los doctores Pedro Ábalos y Patricio Retamal, por el apoyo y compañía en los trabajos en terreno, grandes aventuras y recuerdos.

A todos los que estuvieron, y quizás se me olvidan en este momento (no es raro en mi), pero gracias por estar.

Gracias a CONAF y TurisOtway, por las facilidades y la preocupación en el terreno.

A Claudia Godoy, por sus capacitaciones y las grandes comidas en el lugar más remoto en que he estado.

Finalmente agradecer a los que fueron mis grandes apoyos durante la carrera, mis amigos, en especial a mis MW&S, sin ustedes me habría perdido en innumerables ocasiones en este largo viaje, gracias por estar siempre y apuntar hacia la luz...

MEMORIA DE TÍTULO

“DETECCIÓN DE *Cryptosporidium* spp. EN EL PINGÜINO DE MAGALLANES (*Spheniscus magellanicus*) EN DOS PINGÜINERAS DE LA REGIÓN DE MAGALLANES Y ANTÁRTICA CHILENA”

“*Cryptosporidium* spp. DETECTION IN MAGELLANIC PENGUINS (*Spheniscus magellanicus*) IN TWO BREEDING COLONIES FROM REGION DE MAGALLANES Y ANTARTICA CHILENA (CHILE)”.

Cristóbal Emilio Arredondo Elias de Quiros.*

*Laboratorio de Parasitología, Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Financiamiento

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto FONDECYT 1110255.

RESUMEN

Cryptosporidium spp. es un agente parasitario protozoario zoonótico capaz de infectar a múltiples especies animales en todo el mundo, definido como prioritario para monitoreo en fauna silvestre. Produce diarrea en individuos inmunocomprometidos, siendo transmitido por vía fecal-oral, donde el agua juega un rol epidemiológico importante. Este patógeno, ya ha sido detectado en aguas marinas y superficiales y en animales acuáticos, incluyendo pingüinos de la Antártica. Los Sphenisciformes se consideran centinelas oceánicos, ya que reflejan cambios en la productividad oceánica y cambios ambientales producidos por actividades humanas. Con el objetivo de detectar este patógeno en pingüinos de zonas templadas, en este estudio se tomaron muestras a partir de tómulas cloacales y heces frescas desde el ambiente provenientes de Pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) pertenecientes a dos colonias reproductivas, Isla Magdalena y Seno Otway, en la Región de Magallanes y Antártica Chilena. En Isla Magdalena, un 3,5% de las muestras obtenidas directamente desde las aves fueron positivas al agente, mientras que en Seno Otway un 3,4% de ellas dieron positivas, no existiendo diferencias significativas en los niveles de infección entre las colonias. Por otro lado, en las muestras ambientales, tomadas solamente en Isla Magdalena, se encontró un 29,1% de positividad a la presencia este parásito, siendo esta la primera descripción de *Cryptosporidium* spp. en *S. magellanicus*, y a su vez en pingüinos de zonas templadas.

Palabras claves: *Cryptosporidium* spp., pingüinos, zoonosis, centinelas oceánicos, fauna silvestre.

ABSTRACT

Cryptosporidium spp. is a parasitic zoonotic protozoan capable to infect multiple animal species worldwide that has been defined as monitoring priority in wildlife. It cause diarrhea in immunocompromised individuals, being transmitted by fecal-oral route, with water playing an important epidemiological role. This pathogen has been detected in marine and surface waters, and aquatic animals, including penguins of Antarctica. Sphenisciformes are considered to be ocean sentinels, because they reflect changes in ocean productivity and environmental changes caused by human activities, and in order to detect this pathogen in temperate species in this study Magellanic's penguin's (*Spheniscus magellanicus*) from two breeding colonies from the Región de Magallanes y Antártica Chilena (Chile) (Seno Otway and Isla Magdalena), were sampled by cloacal swabs and fresh faeces from the environment. In Isla Magdalena a 3.5% of samples obtained directly from individuals were positive to the agent, while in Seno Otway 3.4% of them were positive, showing no significant differences in infection levels between both colonies. On the other hand, in the environmental samples taken only in Isla Magdalena, it was found that 29.1% of the samples were positive for this parasite, being this the first *Cryptosporidium* spp. description in *S. magellanicus* and in temperate penguins.

Key words: *Cryptosporidium* spp., penguins, zoonoses, oceanic sentinels, wildlife.

INTRODUCCIÓN

Actualmente las enfermedades zoonóticas, y en particular la relación que existe entre los agentes patógenos zoonóticos y los animales silvestres, tanto terrestres como marinos, cobra gran relevancia, debido a que éstos pueden actuar como reservorios. Por esto, se reconoce la necesidad de un monitoreo activo de patógenos en fauna silvestre, e identificar las potenciales vías de transmisión entre estos, animales domésticos y seres humanos (Appelbee *et al.*, 2005; Barbosa y Palacios, 2009; Patz *et al.*, 1996). Sobretudo si se considera que actualmente el 60,3% de las enfermedades infecciosas emergentes (EIE) en seres humanos son de origen zoonótico (Greger, 2007; Jones *et al.*, 2008), y de estas, cerca de un 60% proviene de reservorios silvestres (Epstein y Field, 2004; Jones *et al.*, 2008), y que la introducción humana de patógenos en ambientes salvajes es la causa más frecuentemente citada de EIE en fauna silvestre (Gilbert *et al.*, 2008; Greger, 2007). Esto dado por el crecimiento de la población humana y a los procesos de urbanización que, junto a otros factores como el creciente interés en actividades de ecoturismo, aumenta las oportunidades de contacto y el riesgo de transmisión de patógenos, entre personas, animales domésticos y fauna silvestre (Epstein y Field, 2004).

Diversos agentes biológicos son constantemente liberados en diferentes concentraciones al medio ambiente por humanos, mascotas, ganado y animales silvestres, y muchos de ellos, dado el inadecuado tratamiento y eliminación de aguas residuales, así como de otros efluentes de las actividades agrícolas, producen finalmente la contaminación del ambiente marino (Fayer, 2004). Algunos factores ambientales de estos ecosistemas como la salinidad, temperatura, nutrientes y luz solar, influyen en la supervivencia y, a veces, proliferación de estos patógenos, habiéndose detectado diferentes bacterias, virus, hongos y protozoos (Steward *et al.*, 2008).

Uno de los patógenos zoonóticos estudiados alrededor del mundo, que es transmitido a través de la ruta fecal-oral, donde el agua constituye una posible vía de transmisión (Kosec *et al.*, 2003) y además definido como prioritario para monitoreo en fauna silvestre debido a la amenaza que representan para la salud pública y animal (Humblet *et al.*, 2012; Tavernier *et al.*, 2011) es *Cryptosporidium* spp., agente que causa diarrea en sus hospederos.

El género *Cryptosporidium* comprende a parásitos intracelulares protozoarios, pertenecientes al orden Eucoccidiorida, suborden Eumeriorina, familia Cryptosporidiidae, cuyo

ciclo de vida incluye reproducción asexual y sexual, que es completada en un solo hospedero. Este parásito afecta el epitelio gastrointestinal, desarrollándose y multiplicándose en los bordes de las microvellosidades, pero también en epitelios de la vesícula biliar, respiratorio y renal, especialmente en hospederos inmunocomprometidos (Smith y Nichols, 2010).

El ooquiste, el estadio infectivo que posee alta resistencia al medio ambiente, posee forma esférica u oval, con un tamaño aproximado de 3 a 8,5 μm de diámetro, dependiendo de la especie (Fayer y Xiao, 2008). Estos pueden ser eliminados en grandes cantidades por las heces (Del Coco *et al.*, 2009; Fayer, 2004) y tienen la capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en agua marinas, manteniéndose viables hasta por seis meses (Fayer, 2004).

La transmisión de este patógeno se ha relacionado con la ingestión de agua y alimentos contaminados con material fecal. La diseminación de la infección entre mamíferos y aves acuáticas, puede ser facilitada por factores relacionados con la intensidad de la contaminación ambiental y la supervivencia de los ooquistes en el agua, según las condiciones del medio (Gomes *et al.*, 2007).

Cryptosporidium es un parásito de distribución mundial y ha sido reportado en todos los continentes, incluyendo la Antártica (Fredes *et al.*, 2007a; Fredes *et al.*, 2008), con más de 20 especies descritas, que tienen la capacidad de infectar anfibios, peces, reptiles, mamíferos y aves (Fayer, 2004). La mayoría de las especies de *Cryptosporidium* tienen un rango variable de hospederos, infectando un hospedero principal y otros secundarios. Por otro lado, una especie animal puede ser infectada por diferentes especies de *Cryptosporidium* (Smith y Nichols, 2010).

Cryptosporidium parvum es la especie más prevalente en los animales, y la de mayor rango de hospederos (Appelbee *et al.*, 2005; Fayer, 2004; Smith y Nichols, 2010). En aves, *Cryptosporidium* ha sido descrito en más de 30 especies, pertenecientes a 8 órdenes diferentes (Anseriformes, Charadriiformes, Columbiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes, Sphenisciformes y Struthioniformes) (Fredes *et al.*, 2007a; Ng *et al.*, 2006; Sreter y Varga, 2000), donde las especies patogénicas que producen cuadros de cryptosporidiosis son *C. baileyi*, *C. meleagridis* y *C. galli*, siendo *C. baileyi* la más común (Xiao *et al.*, 2004). *C. meleagridis* es la tercera especie más frecuentemente aislada desde seres humanos inmunocompetentes, con registros de *C. baileyi* en pacientes inmunocomprometidos (Smith y Nichols, 2010). Por su parte,

C. hominis que supuestamente se encuentra restringido a seres humanos, ha sido recientemente descrito en sirénidos, ovinos y aves silvestres (Ng *et al.*, 2006; Xiao, 2010).

En cuanto a los pingüinos, estos pertenecen al orden Sphenisciformes, familia Spheniscidae, incluyendo seis géneros y 16 a 19 especies (Boersma, 2008). Estas aves se encuentran naturalmente distribuidas sólo en el hemisferio sur, siendo observadas en las islas y la costa sur de África, Australia, Nueva Zelanda, Brasil, Ecuador y a lo largo de la costa de Chile, Argentina, Perú e Islas Malvinas (Stonehouse, 1975). Estas son las aves mejor adaptadas para la vida acuática (Boersma, 2008), especializadas para nadar y sumergirse. Son pelágicas y gregarias, viviendo en grandes colonias de anidamiento. Se encuentran en la parte alta de la pirámide alimenticia (Jerez *et al.*, 2008) y la base de su alimentación está dada principalmente por cefalópodos, peces y algunos crustáceos.

La competencia con la pesca comercial ha generado que algunas de estas aves se trasladen cerca de asentamientos humanos, aguas contaminadas, áreas de procesamiento de productos de pesca y vertederos de basura, siendo una conducta de alto riesgo para la transmisión de agentes biológicos, donde el animal se puede transformar en un reservorio de ciertos patógenos. Los pingüinos además, son capaces de movilizar estos agentes largas distancias introduciéndolos en otras poblaciones de animales, siempre con consecuencias desconocidas (Boersma, 2008; Mallory *et al.*, 2010), debido a que anidan en tierra, donde la probabilidad de entrar en contacto con enteropatógenos transmisibles, hospedados por otros animales, es elevada y diversa. La sumatoria de estas características, son suficientes para considerar a los pingüinos como centinelas marinos, en mejor medida que otras aves marinas, ya que ellos reflejan cambios en la productividad oceánica y cambios ambientales producidos por actividades humanas, como la presión de pesca, variaciones climáticas y contaminación por petróleo (Boersma, 2008).

En Chile existen 10 especies de pingüinos, representados por cinco de los seis géneros existentes. En nuestro territorio, la Región de Magallanes y Antártica Chilena, presenta 8 de estas especies de pingüinos, Pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*), Pingüino Papúa (*Pygoscelis papua*), Pingüino de Barbijo (*Pygoscelis antarctica*), Pingüino Adelia (*Pygoscelis adeliae*), Pingüino Macaroni (*Eudyptes chrysolophus*), Pingüino de Penacho Amarillo (*Eudyptes chrysocome*), Pingüino Rey (*Aptenodytes patagonicus*) y Pingüino Emperador (*Aptenodytes forsteri*), donde el terreno costero y las islas son los ecosistemas preferidos por estas aves. Las

otras dos especies son el pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*), que se encuentra asociado a la corriente de Humboldt y el Pequeño pingüino azul (*Eudyptula minor*), que es observado de manera errática en Chile (Jaramillo, 2005).

El presente trabajo se enfocó en el Pingüino de Magallanes. El género *Spheniscus* incluye cuatro especies, encontradas en terrenos costeros del Océano Atlántico y Pacífico (Boersma, 2008). *S. magellanicus* vive en la costa sur de Sudamérica, incluyendo Argentina, Chile y las Islas Malvinas, habitando en aguas marinas exteriores e interiores. Nidifican en cuevas (entre Septiembre y Abril) excavadas por ellos mismos en costas e islas con suelos blandos, con o sin vegetación (Couve y Vidal, 2003). Estos animales gastan más de medio año en su temporada reproductiva, la cual transcurre durante la primavera y el verano. En invierno ellos tienen hábitos pelágicos y es posible encontrar animales errantes en Brasil o incluso Australia, Nueva Zelanda e islas del Atlántico Sur (Venegas, 1999).

Spheniscus magellanicus es considerada una especie casi amenazada (BirdLife International, 2012), a pesar de esto, es el pingüino de clima templado más abundante, sin embargo, todas las poblaciones de este grupo de aves, se encuentran en disminución (Boersma, 2008). Su población se estima en 1.300.000 parejas aproximadamente, distribuidas en Argentina con 650.000, en Islas Malvinas con 100.000 y en Chile con 200.000 parejas (Couve y Vidal, 2003). A pesar que la Región de Magallanes y Antártica Chilena sería el centro principal de la especie en Chile, las únicas estimaciones actualizadas que se conocen, son las correspondientes a Isla Magdalena, Isla Contramaestre y Seno Otway, con 63.000 parejas reproductivas en el año 2007, 25.000 parejas en el año 2002 y con 10.833 individuos en la temporada 2003/2004 respectivamente (Miranda *et al.*, 2009).

Actualmente, los estudios realizados en poblaciones naturales de estas aves son muy escasos, y principalmente enfocados a aspectos ecológicos y etológicos. Sin embargo, el estudio de patógenos presentes en las poblaciones silvestres de pingüinos, está cobrando actualmente gran importancia, puesto que son considerados centinelas de la salud oceánica (Boersma, 2008) Además de los 8 géneros más importantes de todas las aves marinas, los que comprenden el 87% del total de especies, los más amenazados son los pingüinos y los albatros/petreles, los que en conjunto representan un 43% de estas (Croxall, 2012).

A nivel internacional se han descrito algunas patologías parasitarias como la malaria aviar (*Plasmodium* spp.) en pingüinos, la cual generalmente provoca la muerte de estos animales en cautiverio, como en los zoológicos de diversos lugares del mundo, dejando las infecciones por otros agentes parasitarios en segundo plano, debido a que rara vez generan mortalidad (Fowler y Cubas, 2001). En nuestro país son pocos los estudios en fauna silvestre, y en cuanto a los estudios en endoparásitos de pingüinos, actualmente se cuenta con diferentes trabajos realizados en pingüinos tanto en especies antárticas como son *Pygoscelis papua* y *Pygoscelis adeliae*, así como en pingüinos localizados en Chile continental, como el realizado en *Spheniscus humboldti* en la Quinta Región de Chile (Mann, 1992), y en *S. humboldti* y *S. magellanicus* en las costas del centro y centro sur de Chile (González-Acuña *et al.*, 2008), entre otros.

En relación a *Cryptosporidium* spp., recientemente se ha descrito la presencia de este parásito en pingüinos Papúa y Adelia en algunos sectores del territorio Antártico (Fredes *et al.*, 2007a; 2008). Sin embargo, hasta la fecha no existen reportes de este parásito en pingüinos de clima templado, como el caso de *S. magellanicus*. Es por esto y en vista de la cercanía geográfica con poblaciones en las que si se ha descrito la presencia de este agente protozoario, es de interés detectar su presencia en poblaciones de *S. magellanicus*.

MATERIALES Y MÉTODOS.

1. Muestras.

Se recolectaron muestras de heces desde *S. magellanicus* pertenecientes a colonias localizadas en Isla Magdalena, Monumento Natural “Los Pingüinos”, Estrecho de Magallanes (52° 56' 37" S, 70° 21' 37" O); y Seno Otway, Península Brunswick (52° 57' 55" S, 71° 12' 52" O), ambas en la Región de Magallanes y Antártica Chilena (Figura 1), entre los meses de Diciembre del año 2011 y Marzo del año 2012.

El tamaño de muestra se estableció en un mínimo de 560 individuos (280 por cada colonia) para poder detectar el agente en 20 individuos. Lo anterior, considerando un tamaño poblacional de 73.000 parejas, una prevalencia esperada del 10% (Fredes *et al.*, 2007a; 2008) y un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa WinEpiscope 2.0[®].

Los individuos fueron capturados fuera del nido, en el sector de playa de las respectivas colonias, mediante el uso de una red “*tipo chinguillo*” y una manga de malla *Raschel* (figuras 2 y 3). Una vez capturados, se procedió a extraer la muestra mediante un torulado cloacal, el que fue conservado en tubos plásticos con etanol 70% (figura 4), registrando la fecha de colección, el lugar por georeferencia (GPS) y la edad del individuo (adulto o juvenil). A continuación se procedió a tomar medidas morfométricas, tales como largo y ancho del pico (figura 5), largo del ala (Figura 6), largo del pie (figura 7) y el peso corporal. Posteriormente, se procedió al marcaje de los individuos, para evitar recaptura, con un anillo metálico modelo 1005-1 Monel (National Band & Tag Company). Este anillo se ubicó en la membrana interdigital externa del pie izquierdo de todos los individuos capturados (figura 8). Asimismo, desde el ambiente se recolectaron muestras de heces frescas cuando se vio al pingüino expulsar deyecciones, con la precaución de no tocar el suelo, en tubos que contenían etanol 70%. El número de muestras se resume en la Tabla 1.

Las muestras fueron enviadas al laboratorio de la Unidad de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET) de la Universidad de Chile, donde fueron posteriormente procesadas.

Este estudio contó con autorización de la Corporación Nacional Forestal (CONAF) para realizar actividades de investigación en el Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado (anexo 1), autorización de la Subsecretaría de Pesca (SUBPESCA) (anexo 2) y publicación en el diario oficial para realizar pesca de investigación indicada (anexo 3), además de aprobación del Comité Asesor de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (anexo 4).

2. Detección de *Cryptosporidium* spp.

Para las muestras recolectadas desde los individuos (torulado cloacal), se retiró la cabeza de algodón de cada tórula y se dejó en el tubo con el resto de la muestra. En el caso de las muestras ambientales, cada muestra de heces fue tamizada para extraer el material más grueso. Todas las muestras fueron centrifugadas a 1.500 x g durante 15 min, se eliminó el sobrenadante, para luego hacer un extendido en un portaobjetos que fue teñido mediante la tinción de Ziehl-

Neelsen modificada (ZN) (Henricksen y Polenz, 1981). Mediante microscopia óptica con objetivo de inmersión de 100X se realizó la detección de los ooquistes del agente.

Para la identificación de *Cryptosporidium* spp. se utilizó un criterio basado en 3 parámetros: color (fucsia), tamaño (3-8,5 µm) y forma (esférico u ovoide) (Fayer y Xiao, 2008). Las muestras se consideraron positivas si cumplían estos 3 criterios simultáneamente.

Una vez realizado lo anterior se procedió a obtener la frecuencia de presentación de este parásito en cada población, y se realizó una prueba de Irwin-Fisher para realizar la comparación entre las poblaciones, considerando solo las muestras recolectadas desde individuos), utilizando el programa InfoStat[®].

RESULTADOS.

Los resultados del análisis de las muestras mediante ZN, se presentan en la Tabla 2, donde se encontró en Isla Magdalena y en Seno Otway un 8,8% y un 3,5% de muestras positivas a estructuras compatibles con *Cryptosporidium* spp. (ECC) respectivamente (Figura 9). En las muestras ambientales se encontró un 29,1% de muestras positivas a ECC en Isla Magdalena. En total se encontró un 11,4% de muestras positivas a ECC en el presente estudio.

Los resultados de la prueba de Irwin-Fisher indican que no existen diferencias significativas en la presentación del agente entre ambas poblaciones ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN.

En el presente estudio se logró determinar la presencia del parásito *Cryptosporidium* spp. en pingüinos pertenecientes a dos colonias, Seno Otway e Isla Magdalena, ubicadas en la Región de Magallanes y Antártica Chilena, siendo esta la primera descripción del agente en *S. magellanicus* y en pingüinos de zonas templadas, dado que no existen registros previos del agente en estas aves.

El bajo porcentaje de positividad encontrado en las muestras tomadas directamente de los individuos en este estudio (8,8% en Isla Magdalena y 3,5% en Seno Otway) revelaría que *Cryptosporidium* spp. presenta una baja prevalencia en estas poblaciones, puesto que en las únicas dos descripciones previas que existen de este parásito en pingüinos, que corresponden a

las especies antárticas *P. papua* y *P. adeliae*, los porcentajes de infección detectados fueron mayores (32,8% y 6,59% respectivamente (Fredes *et al.*, 2007a; 2008)), pudiendo esto indicar, en el presente estudio, que este hallazgo podría tratarse de aves actuando como portadores del agente, dado la baja cantidad de positivos y al no observarse individuos enfermos al momento de la captura. En este sentido y por tratarse de especies migratorias que recorren grandes distancias, se hace interesante el estudio de su rol como diseminadores de este agente potencialmente zoonótico y emergente, considerando, además, que ambas poblaciones (Isla Magdalena y Seno Otway) compartirían los factores de riesgo, y por lo mismo, las posibles fuentes de infección, pudiendo incluso tener un origen común.

Hasta la fecha, no existen registros de enfermedad o de brotes de cryptosporidiosis en poblaciones silvestres de aves, pero como se mencionó anteriormente, *Cryptosporidium* ha sido descrito en más de 30 especies de aves, lo que podría indicar que, en aves silvestres, no existe morbilidad ni mortalidad ante la presencia de este agente. Sin embargo, es importante tener en consideración el rol epidemiológico que tendrían estos animales en la mantención y diseminación del agente en el ambiente y en diferentes poblaciones animales, ya que podrían estar actuando como portadores mecánicos de ooquistes infectantes, como ya ha sido descrito para *C. parvum* en gansos canadienses (*Branta canadensis*) y patos (*Anas platyrhynchos*), en los que se ha demostrado que luego de una inoculación oral con ooquistes, estos mantienen su infectividad después del paso por el tracto digestivo (Graczyk *et al.*, 1996; 1997; 1998), comportándose como un parásito espurio. Así también, es importante considerar que el efecto negativo para los hospederos no es evidente en la mayoría de las parasitosis en aves silvestres y que sólo en una pequeña cantidad de casos el parasitismo está asociado a un signo clínico que permita sospechar de una enfermedad. Es por esto que la aparente naturaleza benigna del agente puede deberse a que el efecto del parásito es mínimo y por lo tanto indetectable, o bien que este es tolerable para el individuo, por lo que no presenta signos evidentes (Atkinson *et al.*, 2008). Otra posibilidad es que el efecto del parasitismo esté enmascarado por otros factores regulatorios, como la predación o la competencia, donde, por ejemplo, individuos altamente parasitados serían presas más fáciles de capturar (Temple, 1987). Una última posibilidad es que, si bien existe un detrimento para el individuo, la metodología utilizada es insensible para encontrar estos efectos, dejando animales infectados excluidos, midiendo parámetros que no son los apropiados o bien analizando interacciones entre hospedero y parásito en contextos equivocados (Atkinson *et al.*, 2008).

Por otro lado, la toma de muestras desde el ambiente, demostró ser mucho más eficiente que el torulado cloacal, ya que permite obtener mayor cantidad de heces respecto al muestreo directo de los individuos, donde la escasa cantidad de material recuperado llevó a que 153 muestras de Isla Magdalena y 123 de Seno Otway no pudieran ser analizadas, porque no fue posible recuperar suficiente muestra para la realización del extendido o este no fue posible de observar en el microscopio posterior a la técnica de tinción. Además se encontró un mayor número de positivos (29,11%) respecto a las muestras obtenidas directamente desde los individuos (7,4%). También el muestreo desde el ambiente permite que este se realice sobre una mayor superficie de la colonia y un mayor número de individuos, ya que se disminuye el tiempo de colección de cada muestra, pudiendo de esta manera obtener una muestra más representativa de lo que sucede en la colonia. Sumado a esto, esta metodología permite obtener muestras sin la necesidad de manipular a los individuos, generando un menor impacto sobre estos, por lo que para futuras investigaciones se recomienda la aplicación de esta técnica de muestreo, pudiendo complementarse con la captura para así no dejar de obtener otro tipo de datos como la morfometría.

Entender el origen de este agente en *S. magellanicus* es necesario, dado su potencial valor como indicador de efecto antrópico en esta y otras poblaciones animales y/o regiones geográficas, puesto que la previa descripción de *Cryptosporidium* spp. en poblaciones de pingüinos antárticos de vida libre tiene la particularidad de que, hasta la fecha, sólo se ha reportado en colonias cercanas a asentamientos humanos permanentes, como las bases científicas, mientras que colonias de las mismas especies, pero en zonas donde las visitas humanas son esporádicas, esto no ha sido posible (Fredes *et al.*, 2007b; Fredes *et al.*, 2008; Barbosa y Palacios, 2009). Así la presencia de este protozoo se podría considerar un indicador del efecto antropogénico en estas zonas (Barbosa y Palacios, 2009). Esto se ratifica cuando se reconoce que las actividades humanas tienen un gran impacto sobre los ecosistemas marinos, y por ende, la salud de los animales que lo habitan, al aumentar las probabilidades de contacto con microorganismos provenientes de otras especies, los que pueden ser transportados directamente por distintos animales a las poblaciones (Fowler y Cubas, 2001) o adquiridos desde el agua de mar (Potti *et al.*, 2002).

Como ya ha sido señalado, los pingüinos son considerados centinelas oceánicos y, en términos de enfermedades transmisibles, las especies de zonas templadas son de mayor preocupación (Fowler y Cubas, 2001). Por lo anterior, las actividades humanas, como la ganadería en las cercanías de las colonias reproductivas de *S. magellanicus* en Seno Otway, y el movimiento de embarcaciones o las visitas turísticas en ambas colonias evaluadas en el presente estudio, son factores que representan un potencial riesgo de que estos se transformen en hospederos incidentales o de mantención de patógenos (Boersma, 2008), incluyendo *Cryptosporidium* spp.

Además, es muy probable que este agente se encuentre en otros animales marinos de la zona, ya que en la literatura se ha descrito su presencia en dugongos (*Dugong dugon*) (Hill *et al.*, 1997), lobos marinos (*Zalophus californianus*) (Deng *et al.*, 2000), ballenas boreales (*Balaena mysticetus*), ballenas francas (*Eubalaena glacialis*), focas anilladas (*Phoca hispida*) (Hughes-Hanks *et al.*, 2005), manatíes antillano (*Trichechus manatus manatus*) y amazónico (*Trichechus inunguis*) (Gomes *et al.*, 2007), y en moluscos, como ostras y mejillones (Fayer *et al.*, 2003; Fayer *et al.*, 2004).

Por todo esto, y porque se ha descrito en humanos (Neira, 1988) y animales domésticos de nuestro país (Alcaíno *et al.*, 1989; Gorman *et al.*, 1990), existe la necesidad de realizar estudios destinados a la detección y monitoreo en especies centinelas, como los pingüinos, de *Cryptosporidium* spp. y otros agentes patógenos prioritarios en fauna silvestre (Humblet *et al.*, 2012, Tavernier *et al.*, 2011), en particular cuando el riesgo de transmisión entre especies es crítico, como ocurre con *S. magellanicus* en la Región de Magallanes. Esta información debiera ser considerada en futuras decisiones sobre estrategias epidemiológicas preventivas, así como también en la regulación de actividades humanas (turismo, ganadería, minería, urbanización, entre otras), tanto para proteger la vida silvestre de la región como la salud de las personas.

Dado que la microscopía óptica se basa en el diagnóstico morfológico y permite la identificación solamente a nivel de género, la realización de estudios moleculares posteriores permitirá determinar la especie del agente, y con esto, junto a la aplicación de técnicas de epidemiología molecular, sugerir o descartar el potencial de transmisión interespecie de este patógeno, como determinar la posibilidad de ser considerado un indicador del efecto antropogénico en la zona.

Finalmente los resultados del presente estudio que permitieron la detección de ECC en 28 de 377 muestras extraídas desde individuos, mediante torulado cloacal (7,4%), y 23 de 79 muestras obtenidas desde el ambiente (29,1%), confirma la presencia de este agente protozoario en dos colonias de *S. magellanicus* de la Región de Magallanes y Antártica Chilena, con un nivel de infección total de 11,4%, siendo esta la primera descripción del agente tanto en esta especie como en pingüinos de zonas templadas, pese a que el método de muestreo de torulado cloacal previa captura en la zona de playa no es el más indicado para este tipo de estudios, donde al parecer, lo más indicado es recoger muestras de heces frescas desde el ambiente tratando de cubrir la mayor superficie en donde se encuentren los individuos.

BIBLIOGRAFÍA.

- **ALCAÍNO H, LAVAL E, GORMAN T, PINOCHET L, DÍAZ I.** Isosporosis y criptosporidiosis en cerdos de criaderos industriales de la Región Metropolitana de Chile. Arch. Med. Vet. 1989; 21(2): 131-135.
- **APPELBEE A J, THOMPSON R C A, OLSON M E.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. Trends in Par. 2005; 21(8):370-376.
- **ATKINSON, C T, THOMAS, N J, HUNTER D B,** editores. Parasitic diseases of Wild Birds. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008. 595 pp.
- **BARBOSA A, PALACIOS M.** Health of Antarctic birds: a review of their parasites, pathogens and diseases. Polar Biol. 2009; 32(8):1095-1115.
- **BIRDLIFE INTERNATIONAL.** *Spheniscus magellanicus* [en línea] *IUCN Red List of Threatened Species*. 2013; <<http://www.iucnredlist.org/details/22697822/0>> [consulta: 10-12-2013].
- **BOERSMA P D.** Penguins as Marine Sentinels. BioScience. 2008; 58(7): 597-607.
- **COUVE E, VIDAL C.** Birds of Patagonia, Tierra del Fuego & Antarctic Peninsula, The Falkland Islands & South Georgia. 1st Ed. Fantástico Sur Birding, Chile, 2003. 319 pp.
- **CROXALL J P, BUTCHART S H M, LASCELLES B, STATTERSFIELD A J, SULLIVAN B, SYMES A, et al.** Seabird conservation status, threats and priority actions: a global assessment. Bird Con. Int. 2012; 22: 1–34

- **DEL COCO V F, CÓRDOBA M A, BASUALDO J A.** Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Rev. Argen. Microbiol.* 2009; 41(3): 185-196.
- **DENG M Q, PETERSON R P, CLIVER D O.** First findings of *Cryptosporidium* and *Giardia* in California sea lions (*Zalophus californianus*). *J. Parasitol.* 2000; 86(3): 490-494.
- **EPSTEIN J, FIELD H.** Complexities of seeking agents in wildlife reservoirs. Report: WHO/FAO/OIE; 2004 3-5 May.
- **FAYER R, TROUT J M, LEWIS E J, SANTIN M, ZHOU L, LAL A A, et al.** Contamination of Atlantic coast commercial shellfish with *Cryptosporidium*. *Parasitol. Res.* 2003; 89(2): 141-145.
- **FAYER R.** *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.* 2004; 126(1-2): 37-56.
- **FAYER R, DUBEY J P, LINDSAY D S.** Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends Parasitol.* 2004; 20(11): 531-536.
- **FAYER R, XIAO L.** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 2008. 560pp.
- **FOWLER M, CUBAS Z.** *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals.* Iowa State University Press. 2001. 455pp.
- **FREDES F, RAFFO E, MUÑOZ P.** First report of *Cryptosporidium* spp. oocysts in stool of Adélie penguin from the Antarctic using acid-fast stain. *Ant. Science.* 2007a; 19(4): 437-438.
- **FREDES F, MADARIAGA C, RAFFO E, VALENCIA J, HERRERA M, GODOY C, et al.** Gastrointestinal parasitic fauna of gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) from the Península Munita, (64° 49'S., 62° 51'W), Bahía Paraíso, Antarctica. *Ant. Science* 2007b; 19, 93-94.
- **FREDES F, DÍAZ A, RAFFO E, MUÑOZ P.** *Cryptosporidium* spp. oocysts detected using acid-fast stain in faeces of Gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) in Antarctica. *Ant. Science.* 2008; 20(5), 495–496.
- **GILBERT M, SLINGENBERGH J, XIAO X.** Climate change and avian influenza. *Rev. Sci. Tech.* 2008; 27(2):459-466.

- **GOMES J, CAMARA L, DOS SANTOS D, DE OLIVEIRA F, CARRASCO J, VERGARA-PARENTE J, et al.** Ocurrencia de *Cryptosporidium* spp. en manatí amazónico. *Biotemas*. 2007; 20(3): 63-66.
- **GONZÁLEZ-ACUÑA D, KINSELLA J, LARA J, VALENZUELA G.** Parásitos gastrointestinales en pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) y pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en las costas del centro y centro sur de Chile. *Parasitología latinoamericana*. 2008; 63 (1-2-3-4): 58-63. [en línea] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122008000100010&lng=es&nrm=iso. ISSN 0717-7712. doi: 10.4067/S0717-77122008000100010 [consulta: Noviembre 2011].
- **GORMAN T, ALCAÍNO H, MANDRY P.** Criptosporidiosis en ovinos y caprinos de la zona central de Chile. *Arch. Med. Vet.* 1990; 22(2): 155-158.
- **GRACZYK T K, CRANFIELD M R, FAYER R, ANDERSON M S.** Viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocyst are retained upon intestinal passage through a refractory avian host. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996; 62: 3234-3237.
- **GRACZYK T K, CRANFIELD M R, FAYER R, TROUT J, GOODALE H J.** Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocyst is retained upon intestinal passage through a migratory waterfowl species (Canada goose, *Branta canadensis*). *Trop. Med. Int. Health Res.* 1997; 2: 341-347.
- **GRACZYK T K, FAYER R, TROUT J M, LEWIS E J, FARLEY C A, SULAIMAN I, et al.** *Giardia* sp. Cyst and infectious *Cryptosporidium parvum* oocyst in the feces of migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). *Appl. And Env. Microbiol.* 1998; 64: 2736-2738.
- **GRACZYK T K, MAJEWSKA A C, SCHWAB K J.** The role of aquatic birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. *Trends. Parasitol.* 2008; 24: 55-59.
- **GREGER M.** The Human/Animal Interface: Emergence and Resurgence of Zoonotic Infectious Diseases. *Crit. Rev. Microbiol.* 2007; 33(4):243-299.
- **HANSEN J S, ONGERTH J E.** Effects of time and watershed characteristics on the concentration of *Cryptosporidium* oocysts in river water. *Appl. Env. Microbiol.* 1991; 57: 2790-2795.

- **HATCH J J.** Threats to public health from gulls (*Laridae*) Int. J. Environ. Health Res. 1996; 6: 5-16.
- **HENRICKSEN S, POLENZ J.** Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Vet. Scan. 1981; 22: 594.
- **HILL B D, FRASER I R, PRIOR H C.** *Cryptosporidium* infection in a dugong (*Dugong dugon*). Aust. Vet. J. 1997; 75(9): 670-671.
- **HUGHES-HANKS J M, RICKARD L G, PANUSKA C, SAUCIER J R, O'HARA T M, DEHN L, et al.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in five marine mammal species. J. Parasitol. 2005; 91(5): 1225-1228.
- **HUMBLET M F, VANDEPUTTE S, ALBERT A, GOSSET C, KIRSCHVINK N, HAUBRUGE E, et al.** Multidisciplinary and Evidence-Based Method for Prioritizing Diseases of Food-Producing Animals and Zoonoses. Emer. Inf. Dis. 2012; 18(4): e1.
- **JARAMILLO A.** Aves de Chile. 1st Ed. Lynx, Barcelona. 2005. 240pp.
- **JEREZ S, MOTAS M, TORTOSA M, ORTIZ J, VALERA F, PALACIOS M J, et al.** Trace and toxic elements in three species of Antarctic penguins: A preliminary research. Tox. Let. 2008; 180S: S32–S246.
- **JONES K E, PATEL N G, LEVY M A, STOREYGARD A, BALK D, GITTLEMAN J L, et al.** Global trends in emerging infectious diseases. Nature. 2008; 451(7181): 990-993.
- **KOSEC M, BERN C, GUERRANT R L.** The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bull World Health Organ. 2003; 81(3): 197-204.
- **MALLORY M L, ROBINSON S A, HEBERT C E, FORBES M R.** Seabirds as indicators of aquatic ecosystem conditions: A case for gathering multiple proxies of seabird health. Mar. Poll. Bull. 2010; 60:7-12.
- **MANN A.** 1992. Tesis/Memoria. Fauna parasitaria en el pingüino de Humboldt, *Spheniscus humboldti*, (Meyen, 1834) de la V Región de Chile. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 77pp.

- **MIRANDA M, GIBBONS J, CÁRCAMO J, VILINA Y.** Hábitat reproductivo y estimación del tamaño poblacional del pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en Isla Rupert, Parque Marino Francisco Coloane, estrecho de Magallanes (Chile). Anales Instituto Patagonia. 2009. 37(1): 103-111. [en línea] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-686X2009000100010&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0718-686X. doi: 10.4067/S0718-686X2009000100010 [consulta: Noviembre 2011].
- **NEIRA P.** Cryptosporidiosis en la V región, Chile: I estudio en pacientes con síndrome diarreicos, 1985-1987. Parasitol. Día. 1988; 12(1): 25-29.
- **NG J, PAVLASEK I, RYAN U.** Identification of Novel *Cryptosporidium* Genotypes from Avian Hosts. App. Env. Microbiol. 2006; 72(12): 7548-7553.
- **PATZ J A, EPSTEIN P R, BURKE T A, BALBUS J M.** Global climate change and emerging infectious diseases. Jama. 1996; 275(3):217-223.
- **PAYMENT P, PLANTE R, CEJKA P.** Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, *Giardia* cysts, and *Cryptosporidium* oocysts at a large wastewater primary treatment facility. Can. J. Microbiol. 2001; 47(3): 188-193.
- **POTTI J, MORENO J, YORIO P, BRIONES V, GARCÍA-BORBOROGLU P, VILLAR S, et al.** Bacteria divert resources from growth for magellanic penguin chicks. Eco. Let. 2002; 5(6):709-714.
- **SCOLARO J A, HALL M, XIMENEZ I.** The Magellanic Penguin (*Spheniscus magellanicus*): Sexing Adults by Discriminant Analysis of Morphometric Characters. Short Communication. 1983. AuK., Vol 100: 221-224.
- **SMITH H V, BROWN J, COULSON J C, MORRIS G P, GIRDWOOD R W A.** Occurrence of oocyst of *Cryptosporidium* sp. In *Larus* spp. gulls. Epidemiol. Infect. 1993; 110: 135-143.
- **SMITH H V, NICHOLS R A B.** *Cryptosporidium*: Detection in water and food. Exp. Parasitol. 2010; 124: 61-79.
- **SRETER T, VARGA I.** Cryptosporidiosis in birds — A review. Vet. Parasitol. 2000; 87(4): 261-279.

- **STEWART J, GAST R, FUJIOKA R, SOLO-GABRIELE H, MESCHKE J, AMARAL-ZETTLER L, et al.** The coastal environment and human health: microbial indicators, pathogens, sentinels and reservoirs. *Environ Health*. 2008; 7(2): 1-14.
- **STONEHOUSE B.** The biology of penguins. De. by B. Stonehouse. Macmillan (London). 1975. p. 413-435.
- **SULZBACH D, COOKE F.** Elements of non-randomness in mass-captured samples of snow geese. *Jour. Wild. Manegment*. 1978; 42: 437.
- **TAVERNIER P, DEWULF J, ROELANDT S, ROELS S.** Wildtool, a flexible, first-line risk assessment system for wildlife-borne pathogens. *Eur. J. Wild. Res.* 2011; 57(5):1065-1075.
- **TEMPLE S A.** Do predators always capture substandard individuals disproportionately from prey populations?. *Ecology*. 1987; 68:669.
- **VENEGAS C.** Estado de conservación de las especies de pingüinos en la Región de Magallanes, Chile *Estud. Oceanol.* 1999; 18: 45-56.
- **XIAO L.** Molecular Epidemiology Of Cryptosporidiosis: An Update. *Exp. Parasitol.* 2010; 124: 80-89.
- **XIAO L, FAYER R, RYAN U, UPTON S.** *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17: 4211-4215.
- **ZINTL A, MULCAHY G, DE WAAL T, DE WAELE V, BYRNE C, CLYNE M, et al.** An Irish perspective on *Cryptosporidium*. *Irish Vet. Journal*. 2006; 59: 442-447.

TABLAS

Tabla 1. Total de muestras de heces de *Spheniscus magellanicus* de la Región de Magallanes y Antártica Chilena, recolectadas desde el ambiente y desde los individuos, según localidad.

	Individuos	Ambientales	TOTAL
Isla Magdalena	436	79	515
Seno Otway	210	0	210
TOTAL	646	79	725

Tabla 2. Frecuencia absoluta (f_i) y relativa (n_i) de muestras de heces positivas y negativas a estructuras compatibles con *Cryptosporidium* spp. de *Spheniscus magellanicus* de la Región de Magallanes y Antártica Chilena, según tipo de muestra y localidad.

	Muestras desde animales						Muestras ambientales						Total	
	Isla Magdalena		Seno Otway		Total		Isla Magdalena		Seno Otway**		Total			
	f_i	n_i	f_i	n_i	f_i	n_i	f_i	n_i	f_i	n_i	f_i	n_i	f_i	n_i
Positivos	25	0.088	3	0.035	28	0.074	23	0,291	-	-	23	0,291	51	0,114
Negativos	258	0.912	84	0.965	342	0.907	56	0,709	-	-	56	0,709	398	0,886
Total	283*	1	87*	1	377*	1	79	1	-	-	79	1	449	1

*Número de muestras efectivamente analizadas.

**No se recolectaron muestras ambientales.

FIGURAS

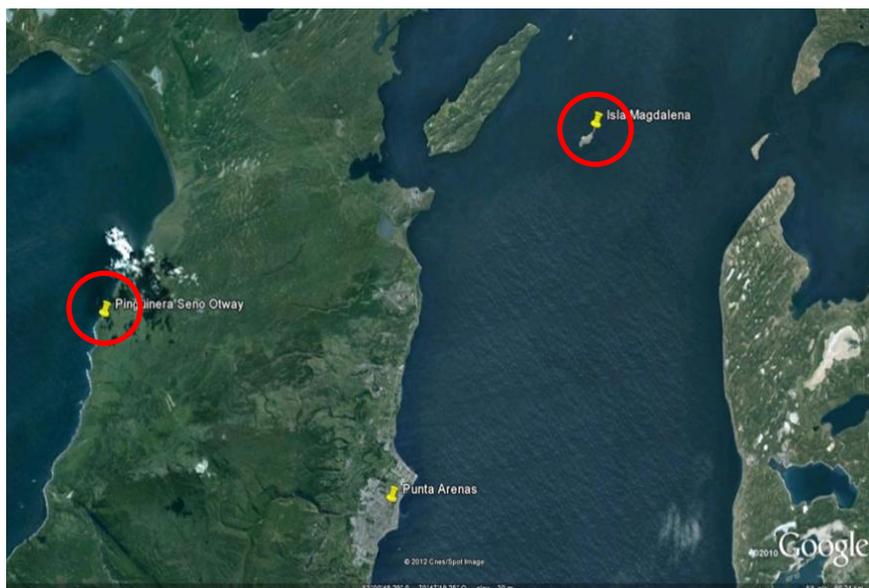


Figura 1. Imagen satelital de la ubicación de las colonias de *Spheniscus magellanicus* muestreadas (Círculos Rojos) respecto a la ciudad de Punta Arenas, Región de Magallanes y Antártica Chilena.



Figura 2. Fotografía de un punto de muestreo en el sector de la playa en Isla Magdalena donde se observan ejemplares de *Spheniscus magellanicus* junto a la manga de malla Raschel instalada para facilitar su captura.



Figura 3. Fotografía de un intento de captura de ejemplares de *Spheniscus magellanicus* mediante red tipo chinguillo y manga de malla *Raschel* en un punto de muestreo del sector de playa de Seno Otway.



Figura 4. Imagen de toma de muestra mediante torulado cloacal a un individuo de *S. magellanicus* capturado en Isla Magdalena.

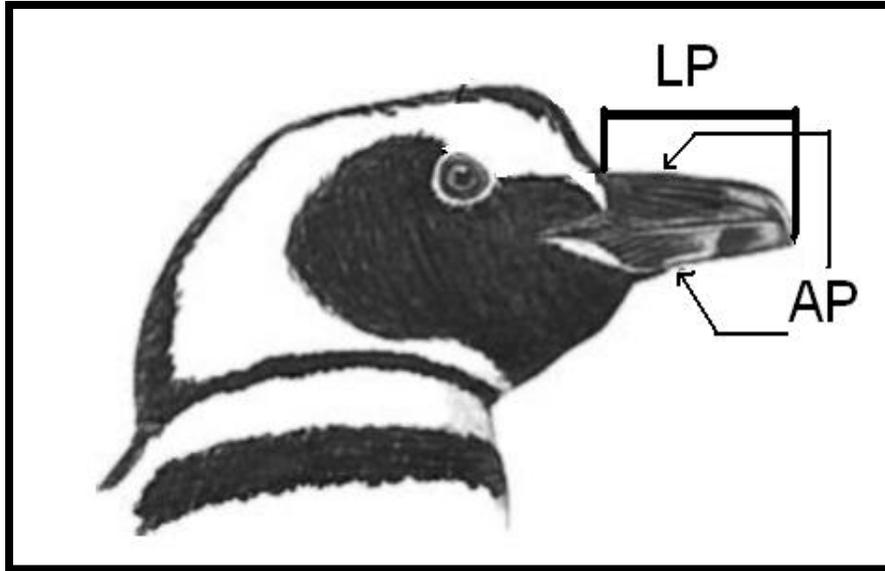


Figura 5. Esquema de medición de largo de pico (LP), desde punta del pico hasta el culmen, y ancho de pico (AP), la cual se obtiene midiendo a la altura de las narinas con pico cerrado, en individuos de *Spheniscus magellanicus*. Imagen modificada de Scolaro *et al.*, (1983).

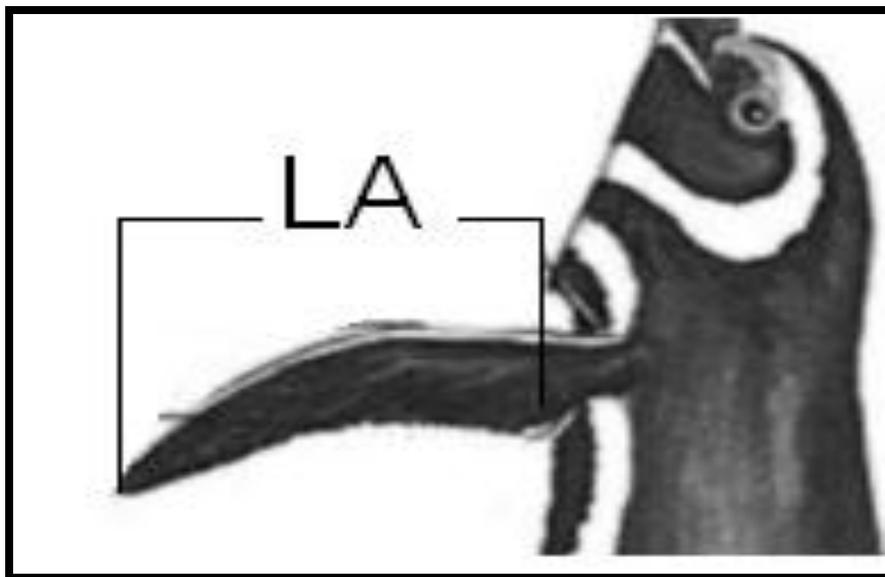


Figura 6. Esquema de medición del largo del ala (LA), desde articulación radio humeral hasta punta del ala extendida, en individuos de *Spheniscus magellanicus*. Imagen modificada de Scolaro *et al.*, (1983).

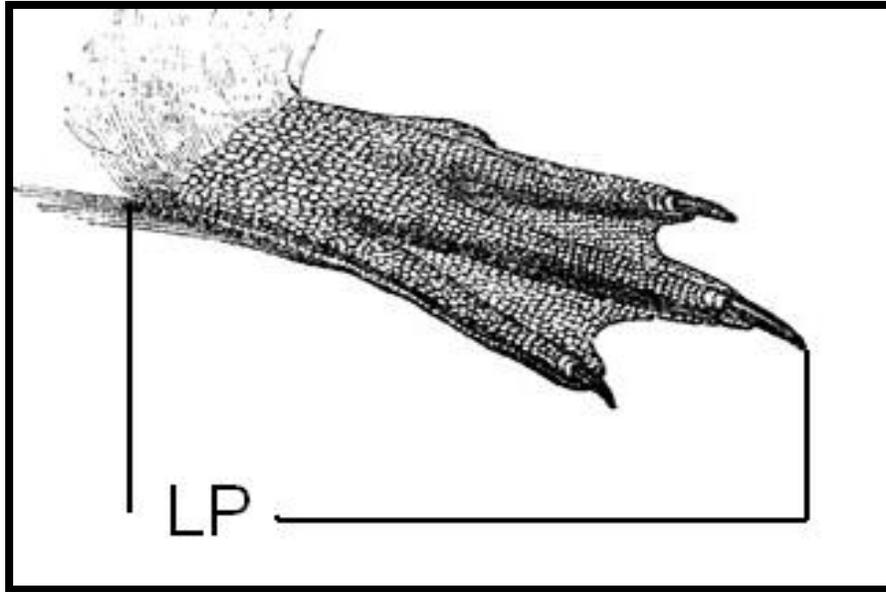


Figura 7. Esquema de medición de Largo de pie (LP), desde articulación tibio tarsal hasta el fin de la uña de la tercera falange del tercer dedo, en individuos de *Spheniscus magellanicus*. Imagen modificada de Sclaro *et al.*, (1983).



Figura 8. Imagen de anillo (modelo 1005-1 Monel, National Band & Tag Company) colocado en un individuo de *Spheniscus magellanicus* capturado para muestreo, correspondiente al número M0 089.

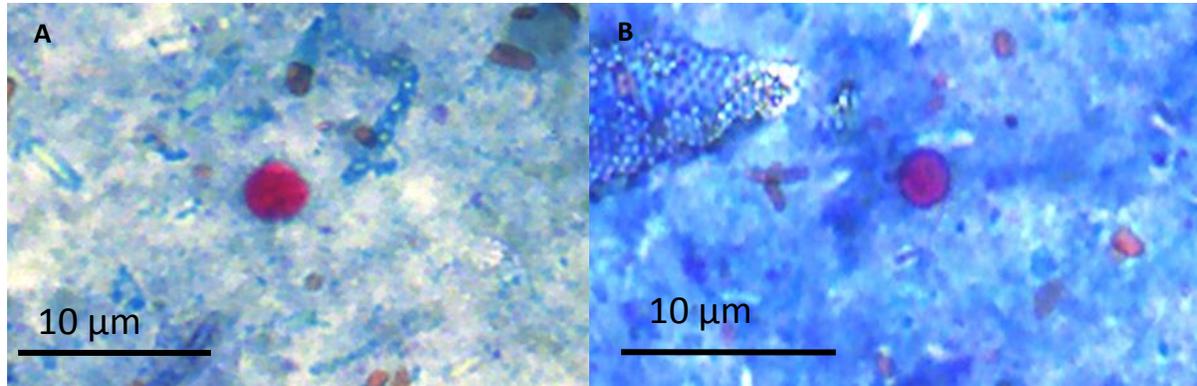


Figura 9. A y B: Imágenes de extendidos de heces de *Spheniscus magellanicus*, teñidos mediante Ziehl-Neelsen modificada, en las que se aprecian estructuras ácido alcohol resistentes compatibles con *Cryptosporidium* spp.

ANEXO 1



CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL
REGIÓN DE MAGALLANES Y ANTÁRTICA CHILENA
DIRECCIÓN REGIONAL MAGALLANES Y ANTARTICA CHILENA
JIS/pmg/ASG

RESOLUCIÓN N°: 439/2010
ANT : SU SOLICITUD DEL 28 DE SEPTIEMBRE DE 2010.
MAT. : AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN.

Punta Arenas, 05/10/2010

VISTOS

1. Las facultades que me confieren el Art. 21 del Reglamento Orgánico de la Corporación Nacional Forestal, la Resolución N° 215, de 03 de mayo de 2010 del Sr. Director Ejecutivo de esta Corporación, reducida a escritura pública con fecha 06 de mayo de 2010, ante Notario Público de la ciudad de Santiago Juan Ricardo San Martín Urrejola, anotada en el Repertorio N° 11.082-2010.

CONSIDERANDO

1. La solicitud presentada por el señor **Fernando Guillermo Fredes Martínez**, Investigador Principal, mediante solicitud del 28 de septiembre de 2010, que en lo central requiere autorización para realizar actividades de Investigación dentro del Monumento Natural los Pingüinos.

RESUELVO

1. **AUTORIZASE** al señor **Fernando Guillermo Fredes Martínez**, Investigador Principal, para realizar actividades de investigación en el Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado, de acuerdo al siguiente detalle de actividades:

LA CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL, CONAF, AUTORIZA A	:	FERNANDO GUILLERMO FREDES MARTÍNEZ
DOMICILIADO EN (Dirección, ciudad País)	:	<u>Dirección Laboral:</u> Santa Rosa 11735, La Pintana, Santiago.
	:	<u>Dirección Particular:</u> Jorge Washington 210, Depto. 101, Ñuñoa, Santiago.
PASAPORTE O CÉDULA DE IDENTIDAD	:	8.609.482-7
NOMBRE DEL PROYECTO	:	"Identification and molecular typing of <i>Cryptosporidium</i> and <i>Salmonella</i> strains collected from Magellanic penguins (<i>Spheniscus magellanicus</i>): the role of these animals as pathogen reservoirs."
PATROCINADO POR	:	FONDECYT de CONICYT
NOMBRE Y PASAPORTE O CÉDULA DE IDENTIDAD DE LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN.	:	1.- Patricio Retamal M. (Co investigador) 2.- Pedro Abalos P. (Co investigador) 3.- Rubén Mercado P. (Co investigador)
PARA REALIZAR LAS SIGUIENTES ACTIVIDADES INDIVIDUALIZADAS EN LA SOLICITUD DE INVESTIGACIÓN PRESENTADA A ESTA CORPORACIÓN.	:	Caracterizar cepas de <i>Cryptosporidium</i> y <i>Salmonella</i> que se encuentren infectando a ejemplares de <i>Spheniscus magellanicus</i> que habitan en Isla Magdalena (Estrecho de Magallanes), Chile (Monumento Natural Los Pingüinos).

DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES :

Para este estudio, durante 3 años, se obtendrán muestras, de esta especie de pingüino considerando dos grupos etarios (adultos y pollos) desde áreas aptas para la captura (de fácil acceso que no signifiquen un riesgo físico para el investigador o para el animal), en donde se les anillará (o se utilizará la identificación que pre exista) y realizará mediciones morfométricas, como el peso, largo de pico, largo de ala etc. y así también se obtendrán muestras de heces, así como los ectoparásitos de las aves y de sus nidos. Además, se registrarán la temperatura, y/o humedad diaria en cada sector de estudio y se muestrearán las aves encontradas muertas.

1.-Objetivo de la colecta: Obtener muestras de heces y ectoparásitos, por un plazo máximo de 3 años, de ejemplares de la especie pingüino de Magallanes, que se encuentren en el área de estudio.

2.-Cantidad y tipo de material para cada uno de los taxa a colectar: El tamaño muestral mínimo calculado para cada año y área de estudio es de 250 pingüinos (n= 1.500). Esto se obtuvo al considerar una prueba de hipótesis entre diferentes proporciones con un $\alpha=0,05$, una diferencia a detectar de 0,10; con una potencia de 80%.

3.-Métodos de colecta: Las aves muestreadas corresponderán a aves vivas, pollos y adultos, capturados manualmente y/o con redes tipo chinguillo o redes tipo corral y mantenidos, cuando lo amerite, en cajas de cartón o plástico oscuras por el mínimo de tiempo posible, durante su manejo, con la finalidad de reducir el estrés al mínimo y resguardar así su integridad física. Además se recolectarán las aves encontradas muertas, los que serán conservados en bolsas plásticas herméticas estériles para ser procesados *a posteriori* en el laboratorio de parasitología de FAVET, U. de Chile. El manejo de las aves vivas será realizado bajo las normas de bioética establecidas por el Protocolo de Madrid del Tratado Antártico (1991) y por el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, que se basa en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigaciones Biomédicas, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité. Toda ave viva muestreada se marcará, eventualmente en forma permanente (anillos plásticos o metálicos, o el que recomiende CONAF), para evitar un doble muestreo y poder contar con información ecológica anexa, si existiera algún marcaje de este tipo, se utilizará éste.

EN LAS SIGUIENTES UNIDADES DEL SISTEMA NACIONAL DE ÁREAS SILVESTRES PROTEGIDAS, Y EN LA FECHAS DE INICIO Y TÉRMINO QUE SE INDICAN.

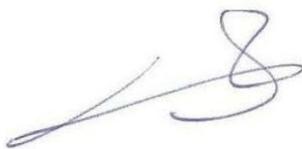
FECHA INICIO	LUGAR	FECHA TÉRMINO
Marzo 2011	MONUMENTO NATURAL LOS PINGÜINOS	Diciembre 2013

2. **CÚMPLANSE** las Normativas Especiales y observaciones que se indican a continuación:

- El investigador deberá comunicarse previo a su visita a terreno (obligatorio) con el Administrador del Monumento Natural los Pingüinos y posterior a cada campaña de terreno, deberá informar al administrador de las actividades efectuadas incluyendo un detalle de las muestras extraídas.
- Los integrantes del equipo de investigación deberán cumplir con las normas de la Unidad y respetar en todo momento las instrucciones que le sean indicadas por el personal del Monumento.
- En los casos en que se requiera mantener a ejemplares de pingüinos de Magallanes en cajas de cartón o de plástico, se deberá mantener a un sólo individuo por caja para producirles un menor estrés y evitar que se lesionen entre sí.

- Ante la eventualidad que el equipo de investigación requiera alojar en la Unidad, se deberá consultar la disponibilidad de alojamiento con la debida antelación (un mes) al administrador del Monumento.
- En el transcurso de la ejecución del estudio, el Jefe del equipo de investigación, deberá efectuar una charla sobre las actividades realizadas y resultados preliminares, al personal de la Unidad.
- El jefe del proyecto de investigación se compromete a entregar al término de la investigación, dos informes parciales durante los dos primeros años y un informe final a fines de diciembre de 2013.
- La no entrega, al cabo de tres años de finalizada la investigación de los informes de terreno o separatas de los trabajos publicados, inhabilitará a todos los investigadores de las instituciones que participan en el estudio, para realizar nuevas investigaciones en el Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado.
- CONAF permitirá el acceso libre a las unidades a visitar.
- De acuerdo al compromiso contraído por el investigador en su Solicitud de Investigación, éste declara conocer y se compromete a cumplir las normas del Reglamento sobre Proyectos de Investigación en Áreas Silvestres Protegidas del Estado.
- El investigador desarrollará sus actividades a su propio riesgo y declara expresamente que exime de toda responsabilidad a CONAF por toda contingencia, cualquiera fuere su causa y efectos, que comprometan al investigador o a su equipo de trabajo.
- El investigador se compromete a obtener los permisos requeridos por el **Servicio Nacional de Pesca** y los solicitados por la legislación chilena para el desarrollo de sus actividades, **el cual deberá ser presentado en la administración de la Unidad, previo al inicio de los trabajos de terreno.**

ANÓTESE Y TRANSCRÍBASE,



José Fernández Dübrock
Director Regional

Dirección Regional Magallanes y Antártica Chilena

Distribución:

- Alejandra Silva Garay-Jefa Sección Conservación de la Diversidad Biológica Departamento Areas Silvestres Protegidas Or.XII
- Mauricio Ruiz Bustamante-Jefe Sección Administración de Areas Silvestres Protegidas Departamento Areas Silvestres Protegidas Or.XII
- Nefalí Arriagada Aroca, -Administrador Monumento Natural Los Pingüinos, CONAF Región de Magallanes y Antártica Chilena .
- FERNANDO GUILLERMO FREDES MARTÍNEZ, -INVESTIGADOR PRINCIPAL, SANTA ROSA 11735, LA PINTANA, SANTIAGO .

ANEXO 2

MINISTERIO DE ECONOMIA
FOMENTO Y TURISMO
SUBSECRETARÍA DE PESCA
PINV 042-2011. PINGÜINOS DE MAGALLANES
ISLA MAGDALENA Y SENDO OTWAY; XII REGIÓN

AUTORIZA A FERNANDO GUILLERMO FREDES
MARTINEZ PARA REALIZAR PESCA DE
INVESTIGACION QUE INDICA.

VALPARAISO, 15 MAR 2011

REXENTA Nº 602

VISTO: Lo solicitado por Fernando Guillermo Fredes Martínez mediante Cl. SUBPESCA Nº 1156 de 2011; lo informado por la División de Administración Pesquera de esta Subsecretaría en Memorándum Técnico (PINV) Nº 042/2011, de fecha 27 de enero de 2011; los Términos Técnicos de Referencia del proyecto FONDECYT denominado *"Estudio de las colonias de Pingüinos de Magallanes (Spheniscus magellanicus) en la XII Región"*; lo dispuesto en el D.F.L. Nº 5 de 1983, del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; la Ley Nº 18.892 y sus modificaciones, cuyo texto refundido, coordinado y sistematizado fue fijado por el D.S. Nº 430 de 1991, del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; la Ley Nº 19.880; el D.S. Nº 461 de 1995, los Decretos Exentos Nº 225 de 1995, Nº 135 de 2005 y Nº 434 de 2007, todos del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción.

RESUELVO:

1.- Autorícese a Fernando Guillermo Fredes Martínez, R.U.T. Nº 8.609.482-7, con domicilio en Av. Santa Rosa Nº 11735, La Pintana, Región Metropolitana, para efectuar una pesca de investigación de conformidad con los Términos Técnicos de Referencia del proyecto FONDECYT denominado *"Estudio de las colonias de Pingüinos de Magallanes (Spheniscus magellanicus) en la XII Región"*, elaborados por el solicitante y aprobados por esta Subsecretaría.

2.- El objetivo principal de la pesca de investigación que por la presente Resolución se autoriza consiste caracterizar cepas de *Cryptosporidium* y *Salmonella* que se encuentren infectando *Spheniscus magellanicus* que habitan en la XII Región.

3.- La pesca de investigación que se autoriza se realizará entre la fecha de la presente Resolución y el 31 de diciembre de 2013, ambas fechas inclusive, en el área correspondiente a la Isla Magdalena (Estrecho de Magallanes) y Seno Otway (Península Brunswick), ambos sitios ubicados en la XII Región de Magallanes y la Antártica Chilena.

4.- En cumplimiento de los objetivos de la presente pesca de investigación, el peticionario realizará la técnica de muestreo no letal y la retención temporal, de manera manual, pudiendo utilizarse redes tipo chinguillos, de ejemplares adultos y juveniles que se encuentren fuera del nido, de la especie Pingüino de Magallanes *Spheniscus magellanicus*, captura que deberá ser efectuada dentro de la zona señalada en el numeral 3.- de la presente Resolución. Cada uno de estos ejemplares será medido y pesado, pudiendo ser marcados con anillos para su individualización.

El examen de muestreo será realizado por no más de 3 personas y en corto periodo de tiempo, disminuyendo el nivel de estrés y de disturbios en las zonas de nidificación. Luego de efectuada la recolección de datos, los ejemplares muestreados deberán ser devueltos en el mismo sitio de su captura.

El peticionario no podrá capturar, ni trasladar fuera de la XII Región o al extranjero, ejemplares de pingüinos, vivos o muertos, o sus huevos.

5.- El solicitante deberá informar a la Oficina del Servicio Nacional de Pesca correspondiente, las fechas y localización exacta de cada una de las jornadas de muestreo, como así también la identificación del personal que participara en ellas, el que no podrá exceder de 3, con a lo menos 48 horas de anticipación.

6.- Una vez finalizadas las faenas de captura, el peticionario deberá entregar a la Subsecretaría un informe que incluya observaciones acerca de la abundancia y el estado de las poblaciones silvestres de pingüinos encontrados en la zona de estudio. Asimismo, una vez concluido el proyecto, el peticionario deberá entregar a esta Subsecretaría las bases de datos respectivas en formato MS-EXCEL versiones 97, 2000, 2003 o MS-ACCESS versiones 97, 2000, 2003.

7.- Designase al Jefe de la División de Administración Pesquera de esta Subsecretaría como funcionario encargado de velar por el oportuno y debido cumplimiento de la obligación establecida en el numeral anterior.

8.- La persona designada como responsable de esta pesca de investigación, será don Fernando Guillermo Fredes Martínez, R.U.T. N° 8.609.482-7, con domicilio en Avenida Santa Rosa N° 11735, comuna de La Florida, Región Metropolitana.

9.- La presente Resolución deberá publicarse en extracto en el Diario Oficial, por cuenta del interesado, dentro del plazo de 30 días contados desde su fecha quedando sin efecto de no publicarse en el plazo señalado.

10.- Esta autorización es intransferible y no podrá ser objeto de negociación alguna.

11.- El petitionerio deberá dar cumplimiento a las obligaciones establecidas en los D.S. N 430 de 1991, N 461 de 1995 y N 434 de 2007, todos del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, sin perjuicio del cumplimiento de las obligaciones que se establecen en la presente Resolución. El incumplimiento har incurrir al titular en el término inmediato de la pesca de investigación sin que sea necesario formalizarlo.

12.- La presente Resolución es sin perjuicio de las que correspondan conferir a otras autoridades, de acuerdo a las disposiciones legales y reglamentarias vigentes o que se establezcan.

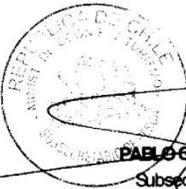
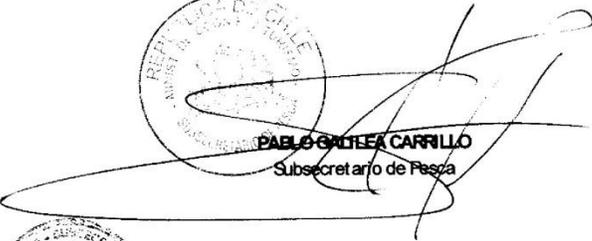
13.- La infracción a las disposiciones legales y reglamentarias sobre pesca de investigación, será sancionada con las penas y conforme al procedimiento establecido en la Ley N 18.892 y sus modificaciones.

14.- El Servicio Nacional de Pesca deberá adoptar las medidas y efectuar los controles que sean necesarios para lograr un efectivo cumplimiento de las disposiciones de la presente Resolución.

15.- La presente Resolución podrá ser impugnada mediante la interposición del recurso de reposición contemplado en el artículo 59 de la ley 19.880, ante esta misma Subsecretaría y dentro del plazo de 5 días hábiles contados desde la respectiva notificación, sin perjuicio de la aclaración del acto dispuesta en el artículo 62 del citado cuerpo legal y de las demás acciones y recursos que correspondan de acuerdo con la normativa vigente.

16.- Transcribase copia de esta Resolución a la Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante y al Servicio Nacional de Pesca.

ANOTESE, NOTIFIQUESE POR CARTA CERTIFICADA Y PUBLIQUESE EN EXTRACTO EN EL DIARIO OFICIAL POR CUENTA DEL INTERESADO



PAULO GALILEA CARRILLO
Subsecretario de Pesca


DIARIO OFICIAL

DE LA REPUBLICA DE CHILE

Núm. 39.919.-
Año CXXXIV - N° 320.108 (M.R.)

Santiago, Viernes 25 de Marzo de 2011

II

SUBSECRETARÍA DE PESCA

(Extractos)

Por resolución exenta N° 569, de 4 de marzo de 2011, de esta Subsecretaría, modifícase la resolución exenta N° 190, de 2011, de esta Subsecretaría, que autorizó a la UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA para efectuar una pesca de investigación de conformidad con los términos técnicos de referencia del proyecto denominado "Distribución espacio-temporal de las agregaciones de Jurel (*Trachurus murphyi*) en la III Región, temporada 2011", en el sentido de agregar en el numeral 4.- la embarcación artesanal Lonquimay 2 (RPA 955248).

Valparaíso, 4 de marzo de 2011.- Pablo Galilea Carrillo, Subsecretario de Pesca.

Por resolución exenta N° 602, de 15 de marzo de 2011, de esta Subsecretaría, autorízase a FERNANDO GUILLERMO FREDES MARTÍNEZ para efectuar una pesca de investigación de conformidad con los términos técnicos de referencia del proyecto FONDECYT denominado "Estudio de las colonias de Pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en la XII Región".

El objetivo de la pesca de investigación consiste en caracterizar cepas de *Cryptosporidium* y *Salmonella* que se encuentren infectando *Spheniscus magellanicus* que habitan en Isla Magdalena y Seno Otway en la XII Región.

La pesca de investigación se realizará entre la fecha de la presente resolución y el 31 de diciembre de 2013, ambas fechas inclusive, en la Isla de Magdalena (Estrecho de Magallanes) y Seno Otway (Península Brunswick), XII Región de Magallanes y la Antártica Chilena.

El peticionario podrá realizar el muestreo no letal y la retención temporal de manera manual de ejemplares polluelos y adultos de la especie Pingüino de Magallanes. Cada uno de estos ejemplares será medido, pesado y determinado su sexo, pudiendo ser marcados con anillos metálicos y de color para su individualización.

El peticionario será la persona responsable de la presente pesca de investigación.

Valparaíso, 15 de marzo de 2011.- Pablo Galilea Carrillo, Subsecretario de Pesca.

ANEXO 4



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Comité de Bioética Animal

Santiago, 13 de junio de 2010

CERTIFICADO

En relación con los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales, tenida a la vista la metodología del Proyecto titulado “**Characterization of *Cryptosporidium spp* and *Salmonella spp* isolated from penguins living in Antarctica and South America as biomarkers of anthropogenic effect**”, cuyo investigador principal es el Dr. **Fernando Fredes**, el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile certifica que éste satisface lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigación biomédica, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité, y no contraviene la legislación chilena vigente sobre la materia.

A este respecto el Comité entiende que el estudio propuesto usa sólo material fecal obtenido de especímenes de pingüinos a los que no se disturbará significativamente.

Dr. José Luis Arias B.
Director
Comité de Bioética Animal

Dr. Santiago Urcelay
Decano

