



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE CONCEPCIÓN**

**IDENTIFICACION MICROSCÓPICA DE *GIARDIA SPP.* EN AVES DEL
ORDEN ANSERIFORMES Y PALOMAS (*COLUMBA LIVIA*) EN
PORTEZUELO, SAN NICOLÁS Y SECTORES DE LA PROVINCIA DE
CONCEPCIÓN**

Memoria de título para optar al título de Médico Veterinario

Profesor Patrocinante: DCs Juana Paola Correa Galaz, MV
Profesor Copatrocinante: DCs, Diana Maritza Echeverry Berrío, MV
Estudiante: Ricardo Valdebenito Villegas

® Ricardo Valdebenito Villegas.

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Concepción, Chile

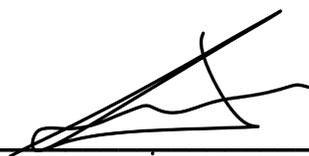
2025

HOJA DE CALIFICACIÓN MEMORIA DE TÍTULO

En Concepción, el 10 de julio del año 2025 los abajo firmantes, dejan constancia que el estudiante RICARDO VALDEBENITO VILLEGAS de la carrera de MEDICINA VETERINARIA, ha aprobado la memoria para optar al título profesional de MÉDICO VETERINARIO con una nota de 6,0.



MCs Javier Neumann, MV
Profesor evaluador



DCs Paloma Moreno, MV
Profesor evaluador



DCs Juana Correa, MV
Profesor evaluador

TABLA DE CONTENIDOS

Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
1. Introducción	1
2. Objetivos	5
3. Material y Métodos	6
4. Resultados	12
5. Discusión	16
6. Conclusión	19
7. Referencias	20
8. Anexos	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados positivos de <i>Giardia spp.</i> según tipo de muestras	12
Tabla 2. Hallazgos relevantes en análisis de muestras	13

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización geográfica de los sitios de muestreo para <i>Columba livia</i>	7
Figura 2. Localización geográfica de los sitios de muestreo para Anseriformes	7
Figura 3. Imagen de referencia de quiste (A) y trofozoíto (B) de <i>Giardia spp.</i>	8
Figura 4. Método de muestreo y realización de técnica de extendido	9
Figura 5. Método de muestreo y realización de técnica de flotación	10
Figura 6. Cantidad de ejemplares analizados según especie	13
Figura 7. Imágenes sugerentes de <i>Giardia spp.</i> en un pato real (<i>Anas sibilatrix</i>)	14
Figura 8. Imágenes sugerentes de <i>Giardia spp.</i> en paloma (<i>Columba livia</i>)	14
Figura 9. Distribución de muestras positivas o negativas a <i>Giardia spp.</i> , según tipo taxonómico	15
Figura 10. Distribución de muestras positivas o negativas a <i>Giardia spp.</i> , en <i>C. livia</i> , según lugar de colecta	15

RESUMEN

El protozoo *Giardia spp.* es un parásito inicialmente descrito por el científico Van Leeuwenhoek, el cual está presente en varias especies animales como mamíferos, reptiles y aves. Su ciclo de vida es directo, el cual consta de 2 fases principales, trofozoíto y quiste. Este parásito se reproduce a través de fisión binaria longitudinal y la infección ocurre vía fecal-oral. Las distintas especies que existen de *Giardia spp.*, pueden infectar a una amplia gama de animales, sin embargo, *G. duodenalis* posee mayor importancia, ya que es la única que puede infectar al ser humano. Una forma reciente de propagación son las aves, que además de ser portadoras de las variantes de *G. psittaci* o *G. ardeae*, también se describió la presencia de *G. duodenalis* en su contenido fecal.

Se desconoce el rango de especies que pueden ser portadoras de *G. duodenalis* así como su prevalencia en la región del Biobío y Ñuble. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue determinar la ocurrencia de *Giardia spp.* en las aves Anseriformes silvestres en Portezuelo y San Nicolás, en la especie *Columba livia* en la provincia de Concepción. Las muestras de materia fecal de aves fueron recolectadas en la Laguna grande de San Pedro de la Paz, Penco, Concepción centro y puerto de Talcahuano, en la región del Biobío además de en Portezuelo y San Nicolás de la región de Ñuble. Posterior a esto se realizaron las técnicas de extendido y de flotación para identificación de estructuras parasitarias correspondientes a *Giardia spp.* mediante microscopía.

Los resultados obtenidos en este estudio reflejaron un 4,6% de prevalencia de *Giardia spp.* en palomas y un 7% en anseriformes. Constituyendo el primer reporte en Chile de *Giardia spp.* en aves anseriformes silvestres, y a nivel mundial en palomas (*Columba livia*).

Palabras clave: *Giardia*, Parásitos, Aves, Columbiformes, Anseriformes, Chile

ABSTRACT

The protozoan *Giardia* spp. is a parasite first described by the scientist Van Leeuwenhoek, which is present in various animal species such as mammals, reptiles, and birds. Its life cycle is direct, consisting of two main phases: trophozoite and cyst. This parasite reproduces through longitudinal binary fission, and infection occurs via the fecal-oral route. The different species of *Giardia* spp. can infect a wide range of animals, but *G. duodenalis* is the most important because it's the only one that can infect humans. A recent form of spread is through birds, which, in addition to being carriers of the *G. psitacci* or *G. ardeae* variants, have also been found to have *G. duodenalis* in their feces.

The range of species that can carry *G. duodenalis* and its prevalence in the Biobío and Ñuble regions are unknown. For this reason, the objective of this study was to determine the occurrence of *Giardia* spp. in wild Anseriformes birds in Portezuelo and San Nicolás, and in the species *Columba livia* in the province of Concepción.

Bird fecal samples were collected at Laguna Grande de San Pedro de la Paz, Penco, downtown Concepción, and the port of Talcahuano in the Biobío region, as well as in Portezuelo and San Nicolás in the Ñuble region. Subsequently, smear and flotation techniques were used to identify parasitic structures corresponding to *Giardia* spp. using microscopy.

The results obtained in this study showed a 4.6% prevalence of *Giardia* spp. in pigeons and 7% in anseriformes. This is the first report in Chile of *Giardia* spp. in wild anseriformes and worldwide in pigeons (*Columba livia*).

Keywords: *Giardia*, Parasites, Birds, Columbiformes, Anseriformes, Chile

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, es posible encontrar *Giardia spp.* en diversos hospedadores alrededor del mundo, esto es debido a que es un protozoo parasitario cuyo mecanismo de transmisión es mediante la vía fecal-oral, lo que le permite infectar una amplia gama de vertebrados, desde animales domésticos o salvajes hasta incluso el ser humano (Horton et al., 2018; Jian et al., 2021).

Este microorganismo fue descrito inicialmente en el año 1681 por el científico Anton van Leeuwenhoek quien lo observó al revisar sus propias heces diarreicas bajo el microscopio (Adam, 2001). A pesar del tiempo transcurrido, este parásito es difícil de controlar y eliminar del ambiente debido a que tienen una gran resistencia a los desinfectantes que se utilizan en limpieza, incluido el cloro (Egan et al., 2024).

El ciclo de vida de este protozoo es directo, y al igual que la mayoría de los microorganismos flagelados se reproduce de manera asexual por fisión binaria longitudinal, así mismo, consta con 2 grandes fases de su ciclo, trofozoíto y quiste. (Ayers et al., 2014; Baker, 2007; Horton et al., 2018). Una vez el quiste es incorporado al organismo mediante la vía oro-fecal a través de heces infectadas con *Giardia spp.*, estos ingresarán y se adherirán a la mucosa gástrica causando la ruptura de la membrana del quiste que dará paso a la forma vegetativa del agente, el trofozoíto, esta forma le permite seguir movilizándose a lo largo del intestino, además de reproducirse y multiplicarse para nuevamente volver a transformarse en quistes y ser excretados por medio de las heces (García, 2007; National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2024). Uno de los métodos para poder observar estas fases es descrito por Zajac et al. (2021), quien describe que los trofozoítos se pueden detectar en frotis directos de heces frescas, debido a que, las soluciones de flotación destruirán los trofozoítos, de igual manera indica que el uso de Lugol facilita la observación de los quistes de *Giardia spp.* No obstante, la microscopía no es el único método que se describe para la detección de *Giardia spp.*, también se han descrito pruebas inmunodiagnósticas o moleculares, como los test inmunocromatográficos o las pruebas ELISA (Thompson et al., 2007; Reuschel et al.,

2020; Zajac et al. 2021). además, una de las pruebas más sensible para el diagnóstico de *Giardia spp.* son las pruebas PCR, que logran identificar la especie de *Giardia* presente en el huésped (Ichikawa et al., 2019; Jothikumar et al., 2021).

Además de todo lo mencionado anteriormente, *Giardia spp.* cuenta con diferentes especies dentro de su mismo género, las cuales tienen una mayor incidencia según el tipo de huésped al que parasiten. Por ejemplo, de las seis especies de *Giardia spp.* solo una afecta patológicamente al ser humano, siendo la especie *G. duodenalis*, por lo tanto, la que tiene especial relevancia para la salud pública actualmente. (Horton et al, 2018; Jian et al., 2021). Por otro lado, existe *G. agilis* que infesta a anfibios, *G. barani* a los lagartos, *G. microti* y *G. muris* a roedores, *G. cricetiradum* a hámsters, *G. peramelis* a marsupiales y *G. ardeae* y *G. psitacci* a las aves (Egan et al., 2024).

La infección por *G. duodenalis* puede generar en humanos, así como en otros mamíferos, síntomas como diarrea, pérdida de peso, disminución del apetito, y con menor frecuencia fiebre y náuseas (Adam, 2021). Estos signos son muy similares a lo que se describe en aves infectadas con *Giardia* (*G. psitacci* y *G. ardeae*), como puede ser la presentación de vómitos, diarrea y disminución del apetito (Reuschel et al., 2020). Sin embargo, existen aves que pueden eliminar *Giardia spp.* sin mostrar signos clínicos, siendo pesquisados en exámenes PCR (Ichikawa et al., 2019).

Con respecto a las aves, estas son uno de los grupos más amplios de animales en el planeta, pues constan de 251 familias y 11.017 especies aproximadamente, y en el último tiempo han sido mencionadas por múltiples estudios que se han llevado a cabo, como uno de los tantos reservorios de este microorganismo en diferentes países del mundo, como lo es China, España, Brasil, Hungría, Nueva Zelanda, entre otros (Chilvers et al., 1998; Cornell University, 2020 ; Da Cunha et al., 2016; Jian et al., 2021; Plutzer & Tomor, 2009; Reboredo-Fernández et al., 2015). Entre estas, las que tienen mayor incidencia a presentar *Giardia spp* son las aves silvestres, en especial las aves migratorias, en las que se han descrito especies de *Giardia* sin potencial zoonótico como lo son *Giardia psittaci* y *Giardia ardeae* (Egan et al., 2024). Sin embargo, en algunos casos se identificó *Giardia*

duodenalis, la que posee el potencial de generar zoonosis (Egan et al., 2024). Algunas de las aves portadoras de *G. duodenalis* han sido identificadas en Brasil y noroeste de España (Ebani et al., 2021). Tal es el caso en el noroeste de España, específicamente en Galicia, que a través de pruebas PCR se logró confirmar la secuencia genética correspondiente a *G. duodenalis* en las siguientes especies de aves: el águila ratonera o aguililla (*Buteo buteo*), la codorniz común (*Coturnix coturnix*), la urraca común (*Pica pica*), el arrendajo euroasiático (*Garrulus glandarius*) y el pato de collar (*Anas platyrhynchos*) (Reboredo-Fernández et al., 2015).

En Chile, las especies de aves pertenecientes al orden Anseriformes son diversas, teniendo tanto especies nativas como introducidas, por ejemplo, el pato de collar que ha sido introducido principalmente para la caza y la producción de carne conllevando al aumento de su presencia en el territorio chileno (Thomson et al., 2015). Es de importancia tener en cuenta a este espécimen aviar y a su orden debido a que en diversos estudios se nombra el rol de las aves acuáticas en la diseminación del parásito *Giardia spp.*, esto mediante las heces que excretan en los cuerpos de agua. En efecto, se vuelve aún más relevante considerando que se obtuvieron resultados positivos en especímenes de ánade real de *G. duodenalis*, la cual afecta al ser humano (Egan et al., 2024; Jian et al., 2021; Plutzer & Tomor, 2009; Reboredo-Fernández et al., 2015).

Por otro lado, dentro de la ciudad de Santiago, en la región Metropolitana de Chile, se encontró *Giardia* en cotorra argentina (*Myiopsitta monachus*), la cual es una especie de ave invasora en el país desde 1999, siendo este caso de giardiasis también el primer reporte a nivel mundial de *Giardia spp.* en esta especie (Sandoval-Rodríguez et al., 2021; Tala et al., 2004).

Actualmente en el país, por la de ley de caza, se ha establecido una lista de las aves que se consideran especies invasoras según lo dicta el artículo 6 del título II “de la caza, captura, vedas y otras disposiciones relacionadas” de la ley de caza N° 19.473. En aquella lista se catalogan como especies perjudiciales o dañinas y entregan la autorización para ser cazadas o capturadas durante cualquier época del año en todo el

territorio nacional sin limitación de ejemplares, algunas de las siguientes especies de aves: la cotorra argentina (*M. monachus*), el gorrión (*Passer domesticus*), el zorzal (*Turdus falklandii*) solamente en el Archipiélago de Juan Fernández, y la paloma (*Columba livia*) (Ley N° 19.473, 2018).

La última especie mencionada, *C. livia*, un ave de real interés al estar presente prácticamente en la gran mayoría del territorio nacional (Ministerio Del Medio Ambiente, 2010). El gran problema con estos Columbiformes es la capacidad que poseen de actuar como un vector de enfermedades, contaminar alimentos y dañar infraestructura ocasionando importantes pérdidas económicas (Villalba-Sánchez et al., 2014). A pesar de esto, en los diversos estudios revisados hay una escasa prevalencia de giardiasis, pero no se puede dejar de continuar con vigilancia constante de los patógenos de los cuales esta especie puede ser portadora, ya que sus heces pueden facilitar la transmisión al ser humano (Ali et al., 2014).

A pesar de que las aves son un reservorio y un vector importante para considerar en la diseminación de este parásito, no existen una gran cantidad de estudios en Chile, y los existentes se han enfocado en otras especies y zonas geográficas (Contreras., 2020; Sandoval-Rodríguez et al., 2021). Es por este motivo por el cual se plantea este estudio y la siguiente pregunta de investigación.

¿Son las aves del orden Anseriformes y la especie *Columba livia* que habitan en la región del Biobío y Ñuble portadores del protozoo *Giardia spp*?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar mediante microscopia la presencia de *Giardia spp* en Anseriformes silvestres en Portezuelo y San Nicolás, y en la especie *Columba livia* en la provincia de Concepción.

2.2. Objetivos específicos

1. Analizar la presencia de *Giardia spp.* en Columbiformes invasoras en áreas urbanas de la provincia de Concepción.
2. Estimar porcentaje de prevalencia de *Giardia spp.* en grupos de especies de Anseriformes silvestres de las provincias de la región de Ñuble y en *Columba livia* en la provincia de Concepción.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Metodología

Lista de materiales utilizados

- Microscopio
- Tubo de microcentrífuga de 2 mL
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Bisturí
- Hojas de bisturí
- Guantes
- Mascarillas
- Suero fisiológico
- Lugol
- Agujas hipodérmicas
- Jeringas de 5 mL
- Solución de flotación hipertónica (cloruro de sodio) 40%
- Vaso de precipitado o Vaso encerado
- Colador
- Gasas estériles
- Tubo de ensayo de 15 mL
- Hisopo de madera
- Depresor lingual

3.2 Métodos

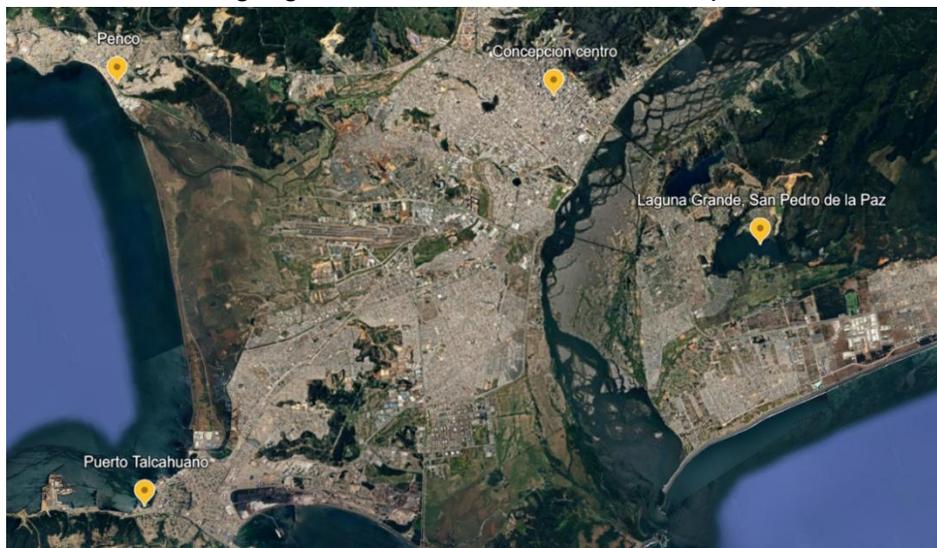
3.2.1. Comité de ética

Este estudio cuenta con el permiso de ética 05-24 entregado por el Comité Institucional de Ética en Cuidado y Uso de Animales, Universidad San Sebastián, bajo el proyecto FONDECYT de iniciación: "Occurrence of *Giardia* in wild birds from Chile: molecular characterization of species and genotypes" (I-11240245)

3.2.2. Muestras

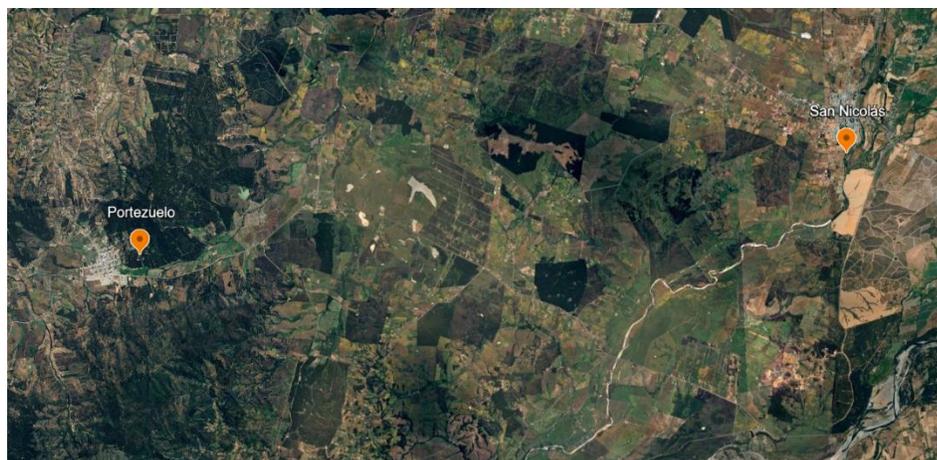
Se lleva a cabo un muestreo no probabilístico y por conveniencia. El número de muestras analizadas de este estudio corresponde a un total de 14 Anseriformes y 43 Columbiformes pertenecientes a la especie *Columba livia*. Los sitios de muestreo para *C. livia* son: Laguna Grande de San Pedro de la Paz ($36^{\circ}51'20''\text{S}$; $73^{\circ}6'28''\text{O}$), Penco ($36^{\circ}44'19''\text{S}$; $73^{\circ}00'09''\text{O}$), Concepción centro ($36^{\circ}49'37''\text{S}$ $73^{\circ}03'00''\text{W}$) y Puerto Talcahuano ($36^{\circ}42'34''\text{S}$ $73^{\circ}06'49''\text{W}$) (**Figura 1**). Las muestras se Anseriformes tienen origen en Portezuelo y San Nicolás (**Figura 2**).

Figura 1. Localización geográfica de los sitios de muestreo para *Columba livia*



Fuente: Elaboración propia a través de Google Earth

Figura 2. Localización geográfica de los sitios de muestreo para Anseriformes



Fuente: Elaboración propia a través de Google Earth

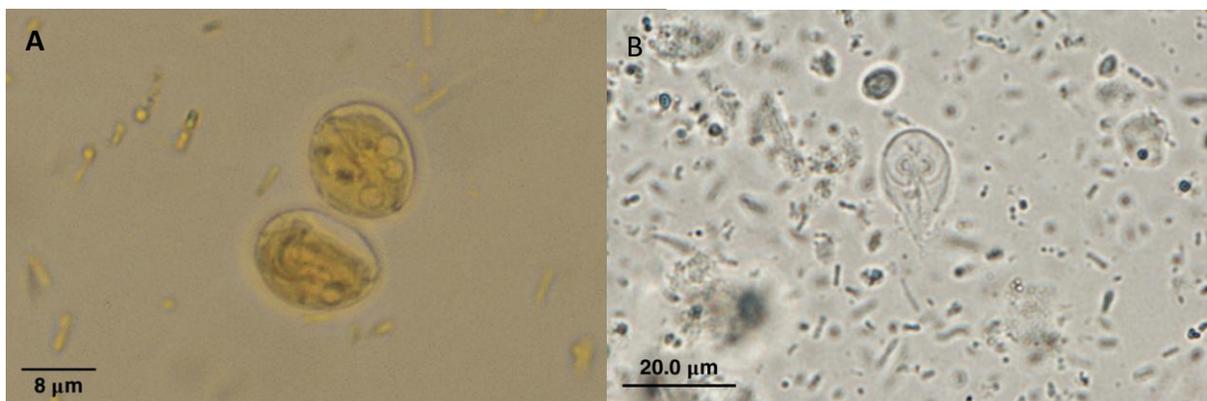
3.2.3. Toma de muestras

Las muestras fecales se obtienen mediante 2 métodos. Uno de ellos consiste en la participación de un cazador autorizado quien cuenta con el permiso de caza otorgado por el Servicio Agrícola y Ganadero, en las que las aves cazadas se ceden para que se realice una toma de muestras de heces en el pabellón de necropsias de la Universidad San Sebastián. Para obtener la muestra, se lleva a cabo el protocolo indicado en el presente proyecto, se debe presionar la cloaca del ave para extraer material fecal y en caso de que este no sea posible de conseguir de esta manera, se extrae el intestino del ave y se presiona de craneal a caudal la porción más distal del intestino hasta la cloaca para lograr la extracción de la muestra. El otro método por el cual son recolectadas las muestras fecales es a través de salidas a terreno en donde se localizan las aves objetivo del estudio, se espera que realicen sus deyecciones y una vez que defecan se recogen las heces tratando de evitar contaminación del suelo.

3.2.4 Procesamiento de muestras

Las muestras obtenidas se depositan en un tubo de microcentrífuga de 2 ml y se refrigeran a 4°C hasta su análisis microscópico, el cual se realiza entre las 8 horas siguientes a la toma de muestras. Las heces colectadas son sometidas simultáneamente a 2 pruebas coproparasitarias, específicamente la prueba de flotación y prueba de extendido, lo que permite evaluar e identificar en duplicado quistes o trofozoítos de *Giardia spp* (Figura 3)

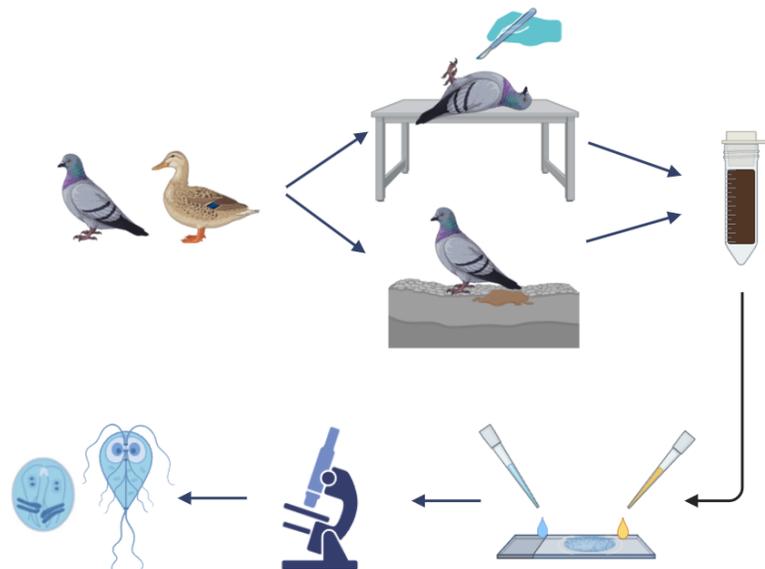
Figura 3. Imagen de referencia de quiste (A) y trofozoíto (B) de *Giardia spp*.



Fuente: Zajac et al. (2021)

Para el extendido se vierte sobre un portaobjetos unas gotas de solución salina y Lugol, ya que según Calchi et al. (2014) se utiliza la solución salina al 0,9% para diferenciar a los trofozoítos y la solución de Lugol para identificar las formas de quistes, luego a las soluciones presentes en el portaobjetos con ayuda de un hisopo de madera se les administra una muestra del material fecal previamente recogido, se coloca el cubreobjetos sobre el portaobjetos y finalmente es observado al microscopio para observar si es que existe o no presencia de *Giardia spp.* (Figura 4).

Figura 4. Método de muestreo y realización de técnica de extendido

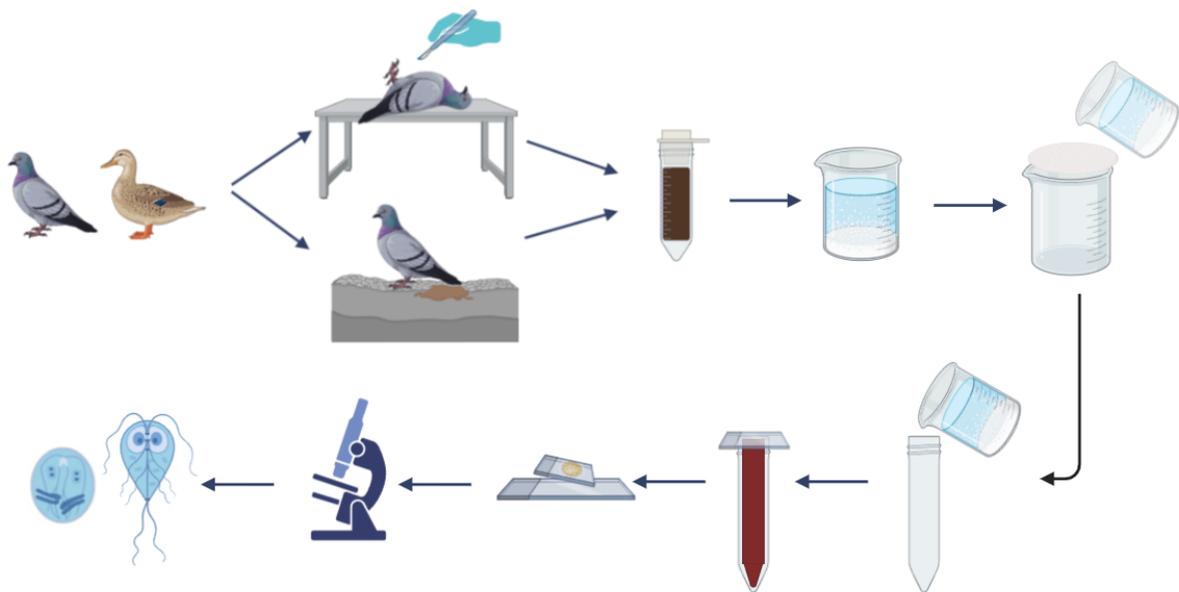


Fuente: Elaboración propia a través de BioRender.

Para la técnica de flotación se emplea una solución hipertónica de cloruro de sodio al 40%. El primer paso es obtener una solución entre el medio de flotación y la muestra de heces. La muestra fecal se vierte en un vaso precipitado o un vaso de papel encerado de 90 a 150 mL, a la muestra se le añade 30 mL de medio de flotación (cloruro de sodio y se mezcla con ayuda de un depresor lingual con el objetivo de obtener una mezcla lo más homogénea posible. Ya obtenida una papilla fecal el contenido es trasladado a otro vaso con ayuda de una gasa y un colador para eliminar impurezas de la prueba. Después del filtrado la solución se vierte en un tubo de ensayo de 15 mL hasta que se llene y se forme un menisco en el borde del tubo, en caso de que no se logre llenar el tubo de ensayo con

la muestra filtrada se puede añadir una pequeña cantidad de medio de flotación fresco, luego de esto se deposita un cubreobjetos de vidrio sobre el fluido y se deja reposar sobre el menisco. El cubreobjetos permanece en la zona superior del tubo de ensayo de 10 a 20 minutos, debido a que si permanece menos del tiempo indicado es posible que no todos los quistes o trofozoítos no hayan tenido el tiempo necesario para flotar, aunque también se debe mencionar que no se puede exceder más de 1 hora, ya que los parásitos tienden a encharcarse y hundirse o deformarse en el medio de flotación. Una vez transcurrido el tiempo óptimo, se retira cuidadosamente en línea recta el cubreobjetos y se coloca inmediatamente en el portaobjetos del microscopio, al colocar el cubreobjetos en el portaobjetos se debe tener en consideración sujetarlo con un borde ligeramente inclinado hacia arriba y que se asiente gradualmente sobre el portaobjetos, para reducir el número de burbujas de aire en la muestra. Finalmente se examina la prueba de flotación y se observan los parásitos presentes (Zajac et al., 2021) (**Figura 5**).

Figura 5. Método de muestreo y realización de técnica de flotación



Fuente: Elaboración propia a través de BioRender.

3.2.5. Análisis de datos

Posterior al procesamiento y observación del material fecal se analizan las variables del estudio que corresponden a: especie de ave positiva a *Giardia spp*, y zona de muestreo (rural o urbana). Se determina la prevalencia total de *Giardia spp*. en aves en la provincia de Concepción, así como la prevalencia específica por zona rural y zona urbana.

$$\text{Prevalencia (P)} = \left(\frac{\text{Número de casos (muestras positivas a } \textit{Giardia spp})}{\text{Población total (Número total de muestras)}} \right) \times 100$$

La información obtenida se presenta mediante tablas y gráficos, utilizando estadística descriptiva basada en porcentaje de aves positivas y negativas.

4.-RESULTADOS

Para este estudio se analizan en total 57 muestras de materia fecal de aves. De estas, 43 muestras corresponden a *C. livia* y 14 muestras a Anseriformes (*Anas cyanoptera*, *A. flavirostris*, *A. georgica* y *A. sibilatrix*), las cuales fueron recolectadas principalmente en zonas urbanas de la provincia de Concepción para el caso de las palomas y en humedales de la región del Ñuble para el caso de los patos (**Figuras 6**).

En las muestras fecales obtenidas tanto por necropsia como por salidas a terreno, se observan quistes de *Giardia spp.* a través de ambas técnicas mencionadas anteriormente (**Figura 7 y 8**). Se detectaron dos aves positivas a través de la prueba de extendido y un ave a través de la prueba de flotación (**Tabla 1**). Además, se identificaron quistes pertenecientes a otros protozoos y helmintos intestinales. Estos hallazgos, aunque no eran parte del objetivo principal del estudio, representan un aporte al conocimiento sobre la diversidad parasitaria en aves silvestres (**Tabla 2**).

Tabla 1. Resultados positivos de *Giardia spp.* según tipo de muestras

Nombre muestra	Tipo de muestra	Técnica utilizada	Solución	Resultado	Forma encontrada
Pato real (PR05)	Necropsia	Extendido	Lugol	Positivo	Quistes <i>Giardia spp</i>
Paloma (PA020)	En vivo	Flotación	Cloruro de Sodio 40%	Positivo	Quistes <i>Giardia spp</i>
Paloma (PA051)	En vivo	Extendido	Lugol	Positivo	Quistes <i>Giardia spp</i>

Tabla 2. Hallazgos relevantes en análisis de muestras

Nombre muestra	Técnica utilizada	Hallazgo encontrado
Pato real (PR05)	Extendido	Quistes <i>Giardia spp</i>
Paloma (PA015)	Flotación	Quistes tipo capillaridae
Paloma (PA016)	Flotación	Quistes tipo capillaridae
Paloma (PA017)	Flotación/extendido	Quistes Spirurida Quistes de ameba
Paloma (PA018)	Extendido	Quistes Spirurida Quistes Capillaridae
Paloma (PA020)	Flotación	Quistes <i>Giardia spp</i>
Paloma (PA021)	Flotación	Quistes ameba
Paloma (PA030)	Flotación	Quistes ameba
Paloma (PA036)	Flotación/extendido	Quistes ameba
Paloma (PA040)	Flotación	Quiste <i>Eimeria spp.</i>
Paloma (PA050)	Flotación	Quistes ameba
Paloma (PA051)	Extendido	Quiste de <i>Giardia spp.</i>
Paloma (PA052)	Flotación	Quistes ameba

Figura 6. Cantidad de ejemplares analizados según especie.

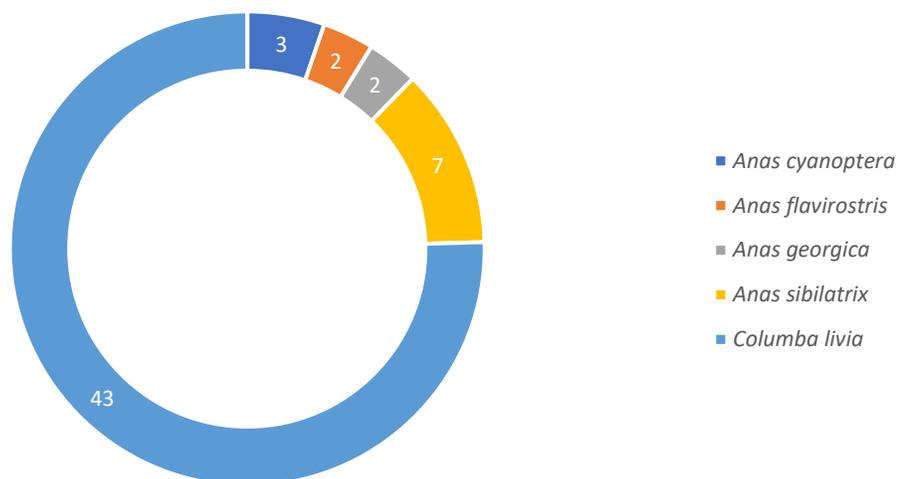


Figura 7. Imágenes de *Giardia spp.* en un pato real (*A. sibilatrix*)

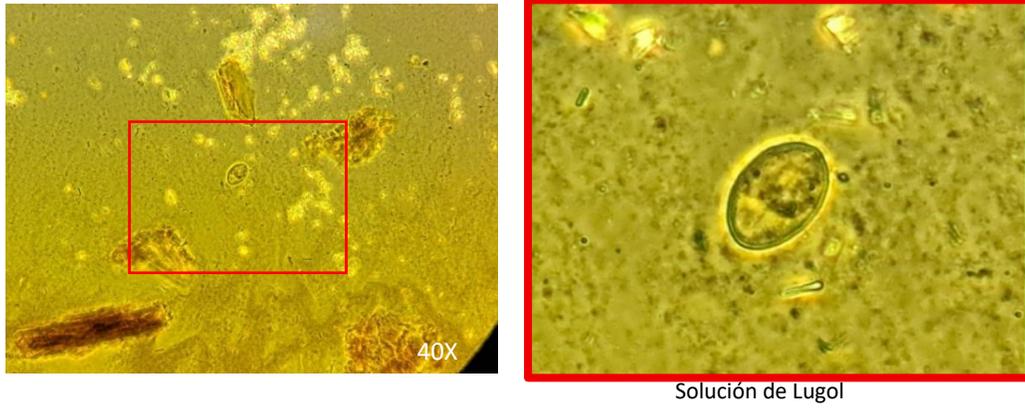
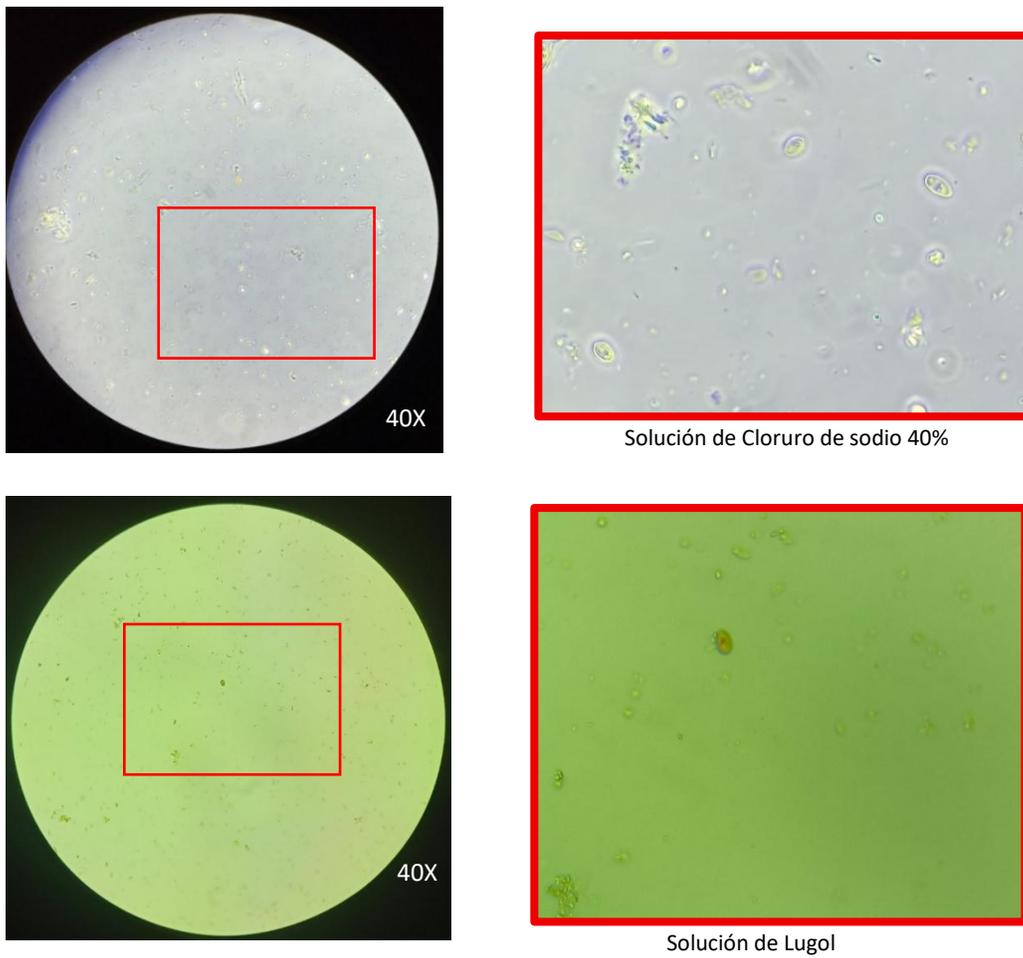
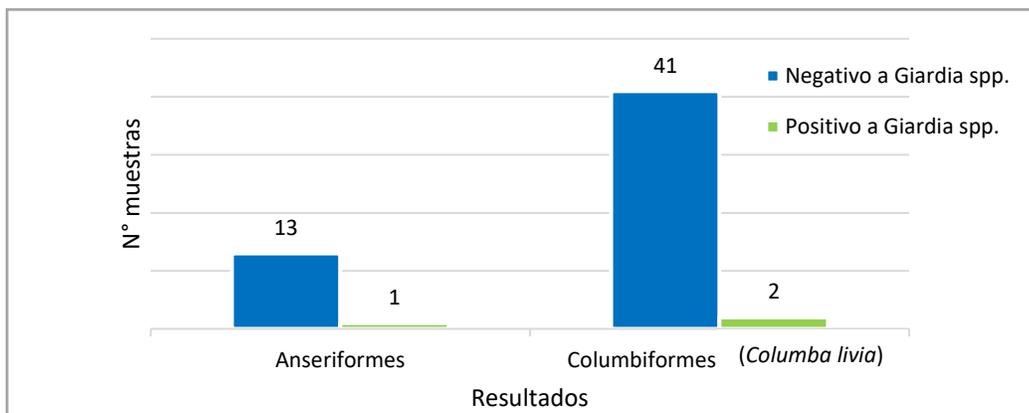


Figura 8. Imágenes de *Giardia spp.* en paloma (*C. livia*)



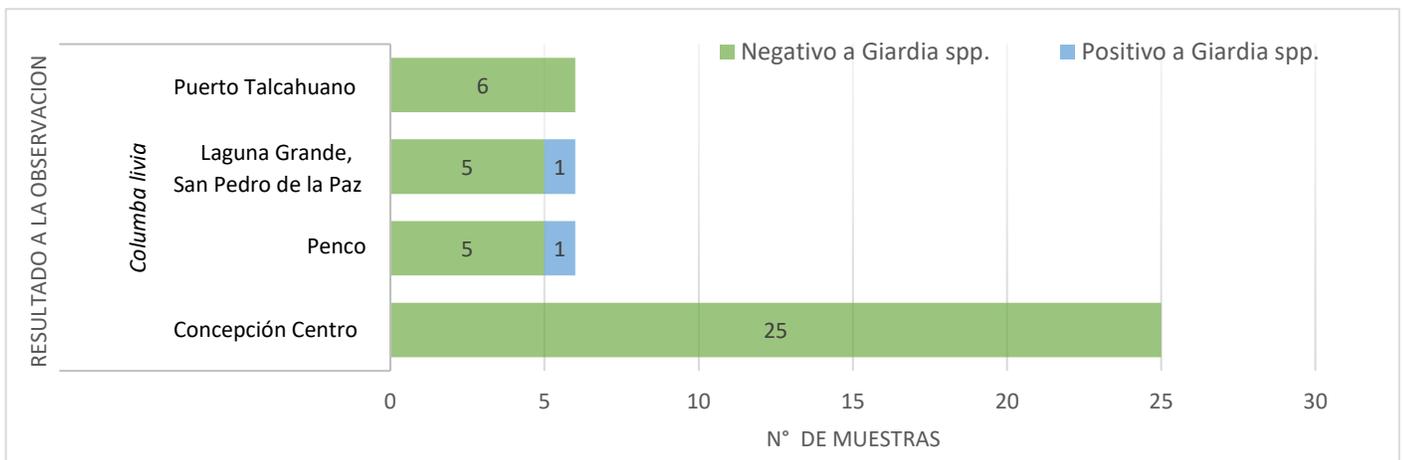
De las 57 muestras, un 75% de heces son provenientes de zonas urbanas (Concepción centro, puerto Talcahuano, Penco, Laguna grande de San Pedro) y un 25% son de zonas rurales (Portezuelo, San Nicolás). Tomando en cuenta los resultados positivos, al utilizar la fórmula para estimar la prevalencia del parásito nos da como resultado un 4,6% (2 positivos en un total de 43 muestras) de prevalencia de *Giardia spp.* en *C. livia*, y un 7% (1 positivo en un total de 14 muestras) de prevalencia en aves del orden Anseriforme (**Figura 9**).

Figura 9. Distribución de muestras positivas o negativas a *Giardia spp.*, según tipo taxonómico



Por consiguiente, se observó la presencia de dos resultados sugerentes del parásito *Giardia spp.* en palomas dentro del área urbana de la provincia de Concepción, siendo en dos sitios de muestreo diferentes (Penco, Laguna grande de San Pedro) (**Figura 10**).

Figura 10. Distribución de muestras positivas o negativas a *Giardia spp.*, en *C. livia*, según lugar de colecta



5.-DISCUSIÓN

En relación con los resultados obtenidos evidencian la presencia de *Giardia spp.* en aves del orden Anseriforme y en *C. livia*, reflejando un porcentaje de prevalencia del 7% y 4,6% respectivamente, estos hallazgos poseen especial relevancia, dado que en Chile no se han reportado casos de *Giardia spp.* en aves Anseriformes silvestres o aves pertenecientes a la especie *C. livia*. Aunque si se han reportado casos en castor canadiense (*Castor canadensis*) según Contreras (2020) y cotorra argentina (*M. monachus*) según Sandoval-Rodríguez et al., (2021). El presente estudio el primero a nivel nacional en encontrar quistes de *Giardia spp.* en Anseriformes silvestres, y el primero a nivel mundial en observar quistes de *Giardia spp.* en *C. livia*, todo esto mediante la observación al microscopio.

Es importante señalar que, si bien se obtuvieron resultados positivos a través del examen microscópico mediante las pruebas de extendido o flotación, siendo dos resultados positivos a través de la técnica de extendido y uno a través de la técnica de flotación, sin ser objetivo del estudio obtenemos una comparación directa entre el uso de una u otra técnica para el análisis. Si bien la microscopia continúa siendo una herramienta útil en el entorno clínico, su eficacia diagnóstica depende en gran medida del nivel de habilidad y experiencia del operador para lograr identificar *Giardia spp.*. Sumado a ello, la excreción del parásito es intermitente, característica que limita la sensibilidad de esta técnica. (Beyhan & Cengiz, 2017; Clyde & Patton, 1996; Thompson et al., 2007). También hay que destacar que si bien se puede identificar mayoritariamente quistes de *Giardia spp.* mediante el microscopio, es muy difícil poder diferenciar entre las diferentes especies del protozoo, siendo esto una gran limitante si solo se utiliza este medio como diagnóstico. Es por eso que, si se utiliza más de una prueba diagnóstica a la vez, es posible aumentar la tasa de casos positivos (Beyhan & Cengiz, 2017). Una prueba más sensible para el diagnóstico podrían ser las pruebas PCR, que podrían permitir identificar a que especie pertenece *Giardia spp.* (Ichikawa et al., 2019; Jothikumar et al., 2021). De igual manera, se describen otros métodos para la identificación de *Giardia spp.*, como lo pueden ser un test inmunocromatográfico para detectar antígenos de *Giardia spp.* como prueba rápida,

o un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) que detectan coproantígenos, aunque debido a su alto costo es usado en menor medida (Thompson et al., 2007; Reuschel et al., 2020).

En cuanto a la detección del parásito en Anseriformes silvestres, si bien no es el objetivo principal del estudio determinar si existe la presencia de *Giardia spp.* en cuerpos de agua, se puede reforzar el rol que poseen las aves acuáticas como diseminadoras de *Giardia spp.* en ambientes acuáticos. La infección por *Giardia* ya es considerada una enfermedad zoonótica diseminada a través de los cuerpos de agua (Plutzer & Tomor, 2009; Feng & Xiao, 2011). Kuhn et al. (2002) estiman que entre el 80 y el 90% de las aguas superficiales de los Estados Unidos están contaminadas con *Giardia spp.* y otros parásitos. En la misma línea, Sydney (2005) describe que existe una relación directa entre giardiasis en humanos y consumo de agua no potable. Es por esto por lo que, encontrar la presencia del parásito en las muestras fecales analizadas en este estudio, se alinea con los resultados descritos en investigaciones realizadas en otros países, como España o Reino Unido, donde se ha documentado la presencia de *Giardia spp.* en aves silvestres (Reboredo-Fernández et al., 2015; Horton et al., 2018).

En relación con *C. livia*, si bien no se ha estudiado ampliamente su rol como diseminador de *Giardia spp.* en comparación a las aves acuáticas, existen antecedentes que pueden llegar a ser una especie hospedadora del parásito con capacidad zoonótica (Ali et al., 2014). Además, se ha documentado que la cotorra argentina (*M. monachus*), una especie invasora al igual que la paloma, si bien pertenece a un orden diferente a las aves de este estudio, comparten hábitat con *C. livia*, y más aún, esta última especie utiliza los nidos abandonados por *M. monachus* (Sandoval-Rodríguez et al., 2021). Estas interacciones en ambientes urbanos podrían representar un riesgo al facilitar la transmisión de patógenos como *Giardia spp.* entre aves silvestres e invasoras, o incluso al ser humano. Briceño et al. (2019) observaron a ejemplares de pato jergón chico (*A. flavirostris*) utilizar nidos abandonados por *M. monachus* en zonas rurales. A su vez, Papini et al. (2012) relacionan a las aves psitaciformes, como lo es la cotorra argentina como un diseminador de quistes de *Giardia spp.*, lo cual se alinea con lo descrito por Briceño et al. (2019), quienes indagan en la posibilidad de que los nidos de cotorra

argentina pueden ser un medio por el cual se diseminen parásitos o patógenos a las aves que utilizan posteriormente estas estructuras.

En este contexto, el haber obtenido el resultado de tres muestras positivas en el presente estudio adquiere relevancia epidemiológica, porque, si bien no se logró identificar la especie específica de *Giardia*, si da pie a la realización de futuros estudios que puedan utilizar otros métodos diagnósticos como el PCR, que permitan discernir si estamos frente a una especie propia de aves (*G. psittaci* y *G. ardeae*) o *G. duodenalis*. Además, se sugiere ampliar este tipo de investigaciones a otras regiones geográficas y especies de aves para caracterizar y obtener datos epidemiológicos de relevancia para el desarrollo de One Health.

6.-CONCLUSIÓN

En el presente estudio se pudo observar la presencia de quistes de *Giardia spp.* en aves del orden Anseriforme de la región del Ñuble y en *C. livia* de la región del Biobío, con prevalencias de 7% y 4.6%, respectivamente, logrando obtener datos relevantes en cuanto a la presencia del parásito en estas regiones, dado el limitado estudio de *Giardia spp.* en aves silvestres e invasoras en Chile, y mundialmente en *C. livia*.

La identificación de este protozoo en áreas urbanas destaca el potencial papel que pueden tener estas aves como hospederos de *Giardia spp.*, con posibilidades de considerarse un factor de importancia en salud pública por el riesgo de una zoonosis.

Sin embargo, la técnica de diagnóstico utilizada presentó limitaciones que deben superarse con el uso de métodos moleculares más sensibles y específicos, como el PCR, para confirmar y tener certeza de la especie de *Giardia*, estableciendo con mayor precisión el riesgo epidemiológico en cuanto si es un agente productor de zoonosis.

Finalmente, se recomienda el uso de más de una prueba diagnóstica y utilizar más de una muestra de diferentes sectores del intestino de un individuo para la identificación de *Giardia spp.*, también evaluar la posibilidad de realizar estudios futuros orientados en cuerpos de agua presentes a lo largo de la provincia de Concepción.

7. REFERENCIAS

- Adam, R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(3), 447–475. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.3.447-475.2001>
- Adam, R. D. (2021). *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4), e00024-19. <https://doi.org/10.1128/cmr.00024-19>
- Ali, J., Swadi, H., & Alewi, H. (2014). Experimental infection of pigeon birds with *Giardia lamblia* parasite isolated from human and treatment of infected birds with ginger extract. *Journal of Kerbala University*, 12(2), 62–66. <https://www.iasj.net/iasj/article/91258>
- Ayers, C. R., DePerno, C. S., Moorman, C. E., Stibbs, H. H., & Faust, A. M. (2014). Survey of Canada Goose Feces for Presence of *Giardia*. *Human–Wildlife Interactions*, 8(2), 245–250. <https://digitalcommons.usu.edu/hwi/vol8/iss2/10/>
- Baker, D. G. (2007). *Flynn’s Parasites of Laboratory Animals* (2^a ed.). Wiley-Blackwell.
- Beyhan, Y. E., & Cengiz, Z. T. (2017). Comparison of microscopy, ELISA, and real-time PCR for detection of *Giardia intestinalis* in human stool specimens. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 47(4),37. <https://journals.tubitak.gov.tr/medical/vol47/iss4/37/>
- Briceño, C., Sandoval-Rodríguez, A., Yévenes, K., Larraechea, M., Morgado, A., Chappuzeau, C., Muñoz, V., Dufflocq, P., & Olivares, F. (2019). Interactions between Invasive Monk Parakeets (*Myiopsitta monachus*) and Other Bird Species during Nesting Seasons in Santiago, Chile. *Animals*, 9(11), 923. <https://doi.org/10.3390/ani9110923>
- Calchi L, C. Marinella, Acurero, E, Villalobos, R, Colina, M, Di Toro, L, & Villalobos, C. (2014). Comparación de técnicas de laboratorio para el diagnóstico de *Giardia intestinalis*. *Kasmera*, 42(1), 32-40. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222014000100004&lng=es&tlng=es
- Chilvers, B., Cowan, P., Waddington, D., Kelly, P., & Brown, T. (1998). The prevalence of infection of *Giardia spp.* and *Cryptosporidium spp.* in wild animals on farmland, southeastern North Island, New Zealand. *International Journal of Environmental Health Research*, 8(1), 59-64. <https://doi.org/10.1080/09603129873660>

- Clyde, V. L., & Patton, S. (1996). Diagnosis, treatment, and control of common parasites in companion and aviary birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 5(2), 75–84. [https://doi.org/10.1016/s1055-937x\(96\)80020-x](https://doi.org/10.1016/s1055-937x(96)80020-x)
- Contreras B, G. (2020). *Pesquisa de Giardia spp. y Cryptosporidium spp. en castores (Castor canadensis) del Parque Natural Karukinka, Tierra del Fuego, Chile*. [Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario, Universidad de Chile]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/200458>
- Cornell University. (2020). *Cornell Lab of Ornithology - Birds of the World*. Birds Of The World. Recuperado 6 de septiembre de 2024, de <https://birdsoftheworld.org/bow/home>
- Da Cunha, M. J. R., Cury, M. C., & Santín, M. (2016). Molecular identification of *Enterocytozoon bieneusi*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in Brazilian captive birds. *Parasitology Research*, 116(2), 487-493. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5309-6>
- Ebani, V. V., Guardone, L., Bertelloni, F., Perrucci, S., Poli, A., & Mancianti, F. (2021). Survey on the Presence of Bacterial and Parasitic Zoonotic Agents in the Feces of Wild Birds. *Veterinary Sciences*, 8(9), 171. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090171>
- Egan, S., Barbosa, A. D., Feng, Y., Xiao, L., & Ryan, U. (2024). The risk of wild birds contaminating source water with zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia* is probably overestimated. *The Science of the Total Environment*, 912, 169032. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169032>
- Feng, Y., & Xiao, L. (2011). Zoonotic Potential and Molecular Epidemiology of *Giardia* Species and Giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 110–140. <https://doi.org/10.1128/cmr.00033-10>
- Garcia, L. S. (2007). *Diagnostic Medical parasitology*. (5^a ed.) American Society for Microbiology Press.
- Horton, B., Bridle, H., Alexander, C. L., & Katzer, F. (2018). *Giardia duodenalis* in the UK: current knowledge of risk factors and public health implications. *Parasitology*, 146(4), 413-424. <https://doi.org/10.1017/s0031182018001683>
- Ichikawa, R. S., Santana, B. N., Ferrari, E. D., Nascimento, I. G. D., Nakamura, A. A., Nardi, A. R. M., & Meireles, M. V. (2019). Detection and molecular characterization

- of *Giardia* spp. in captive Psittaciformes in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 164, 10-12. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.01.006>
- Jian, Y., Zhang, X., Li, X., Schou, C., Charalambidou, I., Ma, L., & Karanis, P. (2021). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild birds from Qinghai Lake on the Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Parasitology Research*, 120(2), 615–628. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06993-w>
- Jothikumar, N., Murphy, J. L., & Hill, V. R. (2021). Detection and identification of *Giardia* species using real-time PCR and sequencing. *Journal Of Microbiological Methods*, 189, 106279. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106279>
- Kuhn, R. C., Rock, C. M., & Oshima, K. H. (2002). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wild Ducks along the Rio Grande River Valley in Southern New Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 161–165. <https://doi.org/10.1128/aem.68.1.161-165.2002>
- Ley N° 19.473. Ley de Caza y su Reglamento | SAG. (2018). <https://www.sag.gob.cl/content/ley-de-caza-y-su-reglamento>
- Ministerio del Medio Ambiente (2010). Inventario nacional de especies de Chile, buscador por especie, *Columba livia*. http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha_indepen.aspx?EspecieId=135&Version=1
- National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. (2024, junio). Giardiasis. CDC. Recuperado 8 de septiembre de 2024, de <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>
- Papini, R., Girivetto, M., Marangi, M., Mancianti, F., & Giangaspero, A. (2012). Endoparasite infections in pet and zoo birds in Italy. *The Scientific World Journal*, 2012, 253127 <https://doi.org/10.1100/2012/253127>
- Plutzer, J., & Tomor, B. (2009). The role of aquatic birds in the environmental dissemination of human pathogenic *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Hungary. *Parasitology International*, 58(3), 227-231. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.05.004>
- Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Cacciò, S. M., & Gómez-Couso, H. (2015). Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest

Spain). *Parasitology*, 142(7), 917-925.

<https://doi.org/10.1017/s0031182015000049>

Reuschel, M., Pantchev, N., Vrhovec, M. G., Jung, A., Gerhauser, I., Sannella, A. R., Cacciò, S. M., & Legler, M. (2020). Occurrence and Molecular Typing of *Giardia psittaci* in Parakeets in Germany—A Case Study. *Avian Diseases*, 64(2), 228.

<https://doi.org/10.1637/0005-2086-64.2.228>

Sandoval-Rodríguez, A., Marcone, D., Alegría-Morán, R., Larraechea, M., Yévenes, K., Fredes, F., & Briceño, C. (2021). *Cryptosporidium spp.* and *Giardia spp.* in Free-Ranging Introduced Monk Parakeets from Santiago, Chile. *Animals*, 11(3), 801.

<https://doi.org/10.3390/ani11030801>

Sydney, A. G. (2005). *Prevalencia de Giardia lamblia en la comuna de Pelarco, según abastecimiento de agua*. [Memoria para optar al Grado de Licenciado en Tecnología Médica, Universidad de Talca]. Repositorio Institucional.

<https://repositorio.otalca.cl/repositorio/items/0db998a1-fa5c-4a05-9cd5-02f0f79a7cf8>

Tala, C., Guzmán, P., González, S., & Ambiental, B. (2004). Cotorra argentina (*Myiopsitta monachus*) convidado de piedra en nuestras ciudades y un invasor potencial, Boletín DIPROREN, diciembre 2004 – febrero, 2005.

Thompson, R. A., Palmer, C. S., & O'Handley, R. (2007). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 177(1), 18–25.

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.09.022>

Thomson, R. F., Bustos-Weisser, J., & Lobos, G. A. (2015). El Ánade Real (*Anas platyrhynchos*), potencial especie invasora para Chile. *El Hornero*, 30(1), 1-5.

<https://doi.org/10.56178/eh.v30i1.594>

Villalba-Sánchez, C., De la Ossa-Lacayo, A., & De la Ossa, J., V. (2014). *Columba livia* doméstica Gmelin, 1789: plaga o símbolo. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*,

6(2), 363. <https://doi.org/10.24188/recia.v6.n2.2014.442>

Zajac, A. M., Conboy, G. A., Little, S. E., & Reichard, M. V. (2021). *Veterinary Clinical parasitology*. (9^a ed.) John Wiley & Sons.

8. ANEXOS



RESOLUCIÓN
Comité Institucional de Ética en Cuidado y Uso de Animales, USS
Versión 2021

Número de Proyecto: 05-24

RESOLUCIÓN CECUA-USS

Protocolo	"Occurrence of Giardia in wild birds from Chile: molecular characterization of species and genotypes"
Investigador Responsable	Diana Echeverry Proyecto de Investigación
Institución	Universidad San Sebastián
Financiamiento	Agencia Nacional de investigación y Desarrollo, Fondecyt de Iniciación 11240245

Documentos revisados por el comité

Protocolo de cuidado y uso de animales.
Pautas de supervisión

Fundamentación de la resolución

El Comité de Ética en Cuidado y Uso de Animales en Investigación de la Universidad San Sebastián, Chile ha revisado los documentos indicados, correspondientes al proyecto titulado "**Occurrence of Giardia in wild birds from Chile: molecular characterization of species and genotypes**", los cuales en su conjunto dan cumplimiento a lo indicado en la Ley Chilena 20.380 sobre Protección Animal (2009), el Código Sanitario de los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 24ª Edición, 2015), la Directiva Europea 2010/63/UE y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (NRC, 8ª Edición, 2011), documentos a los que adscribe esta institución. El protocolo cumple también con el principio de las 3Rs: Reemplazar, Reducir y Refinar.

Resolución

El proyecto titulado "**Occurrence of Giardia in wild birds from Chile: molecular characterization of species and genotypes**", ha sido **APROBADO** con fecha **03 de abril de 2024** en sesión ordinaria del Comité de Ética en Cuidado y Uso de Animales en Investigación de la Universidad San Sebastián y tiene vigencia por el periodo de duración del proyecto.

En la eventualidad de incorporar modificaciones, en los procedimientos especificados en el protocolo aprobado u otros, los investigadores se comprometen a solicitar una nueva evaluación y resolución aprobatoria.

La supervisión a la ejecución de este proyecto será 6 meses posterior al inicio de los experimentos en animales vivos en las dependencias de la USS.



Página 1

Al finalizar la ejecución del proyecto, los investigadores se comprometen a enviar el informe de resultados al Comité.

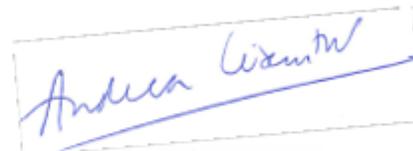
Animales Aprobados	Tipo: Aves silvestres y domestica invasora Mareca sibilatrix (n=12) Anas flavirostris (n=12) Anas geórgica (n=12) Spatula cyanoptera (n=12) Fulica armillata (n=8) Phalacrocorax brasilianus (n=12) Larus dominicanus (n=32) Columba livia (n=102)
---------------------------	--

Miembros del Comité

Dra. Andrea Leisewitz, PhD y Master en Bioética, Presidente.
Dr. Javier Campanini, PhD, Secretario Ejecutivo
Dr. Jaime Gutierrez, PhD, Miembro titular
Dr. Bredford Kerr, PhD, Miembro titular
Dra. Natalia Mendez, MV, PhD Miembro externo



Javier Campanini
Secretario Ejecutivo



Andrea Leisewitz
Presidente