



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN
VOCACIÓN POR LA EXCELENCIA

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE DE LA PATAGONIA**

**PREVALENCIA DE CRYPTOSPORIDIOSIS
(*Cryptosporidium spp.*) EN REBAÑOS DE TERNEROS
EN PREDIOS DE LA COMUNA DE LOS MUERMOS,
REGIÓN DE LOS LAGOS, ENTRE ENERO-ABRIL 2025**

**MEMORIA DE TÍTULO COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA
OPTAR AL TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA**

Profesor guía: Dra. Margarita del Pilar González Gómez
Estudiante: Sandra Camila Cottenie Bohle

**Puerto Montt, Chile
2025**

DERECHOS DE AUTOR

® Sandra Camila Cottenie Bohle. Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra en cualquier forma, medio o procedimiento sin permiso por escrito del o los autores

**Puerto Montt, Chile
2025**

HOJA DE CALIFICACION



HOJA DE CALIFICACIÓN

En Puerto Montt, el 9 de julio, de 2025 los abajo firmantes, dejan constancia que el (la) estudiante Sandra Camila Cottenie Bohle de la carrera o programa de Medicina Veterinaria, ha aprobado la tesis o memoria de título para optar al título o grado académico de Médico Veterinario con una nota de 6.4



Margarita González



Guillermo Santibáñez



Alfredo Rodríguez

DEDICATORIA

A quien me enseñó los primeros pasos en el camino del aprendizaje en neonatología bovina; a quien me entregó inspiración y fortaleza a lo largo de los años; a mi mayor referente, quien ahora es parte de las estrellas mismas: Teodoro Cottenie Lüttecke.

Y también para mi luz en la oscuridad, quien fue testigo de mis logros y derrotas, de cada proceso a lo largo de doce años de mi vida. Quien me apoyó a su manera, única e irrepetible. Aunque no alcanzó a ver el final de este estudio, vivirá por siempre en mi corazón y en el de quienes tuvimos la fortuna de conocerlo: Balto, gracias por todo...

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Universidad San Sebastián, sede de la Patagonia, y a la Facultad de Medicina Veterinaria, por brindarme recursos y el espacio académico fundamentales para el desarrollo de mi investigación.

Mis mayores agradecimientos van dirigidos a nuestra querida docente la Dra. Margarita González Gómez por su confianza, disposición, paciencia, dedicación y apoyo incondicional a lo largo de este estudio, un tanto desafiante, pero bajo su guía fue gratamente interesante lo que me permitió deslumbrar en un enfoque diferente mi trabajo, inspirándome hacer este tema de estudio a partir de su docencia.

A todo el equipo del Laboratorio Clínico y Microbiológico, muchas gracias por su apoyo, enseñanzas durante todo este proceso, por sobre todo los momentos emocionantes y el cariño entregado mientras me encontraba analizando las pruebas.

Al Laboratorio de Histopatología Animal, muchas gracias por enseñarme las tinciones correspondientes a mi estudio, modificaciones adecuadas para mis objetivos, por sobre todo su cariño y apoyo total en todo momento.

Agradezco sinceramente a los productores del grupo de Grupo de Transferencia Tecnológica (Gtt de Leche Los Muermos) de la comuna de Los Muermos que me permitieron acceder a sus predios y obtener muestras de sus terneros. Su disposición y confianza fueron fundamentales para la realización de este estudio.

Agradezco profundamente el apoyo de mi familia durante este largo proceso, desde la obtención de muestras hasta la redacción del presente documento. En especial, a mi Padre, por su apoyo incondicional y sus valiosas sugerencias respecto a mi estudio; a mi Madre, por mantener siempre la fe y la constancia; y a mi Hermano, por no permitirme rendirme ante los momentos difíciles que enfrenté durante este camino académico.

TABLA DE CONTENIDO

DERECHOS DE AUTOR	i
HOJA DE CALIFICACION	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
1. ESPECIES DEL GÉNERO <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	1
1.1 Ciclo de vida del <i>Cryptosporidium spp</i>	3
1.2 Etiología del cuadro parasitario	5
1.3 Factores ambientales asociados a <i>Cryptosporidium spp</i>	5
2. FACTORES INMUNITARIOS DEL HOSPEDADOR	6
3. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	7
4. IMPACTO DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> EN LA GANADERÍA	8
5. PROGRAMA DE SEGURIDAD EN PREDIOS	8
6. ANTECEDENTES DE PREVALENCIAS	12
7. GEOGRAFIA DE LA ZONA	13
8. RAZONES DEL ESTUDIO EN <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	14
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	16
i) Objetivo General:	16
ii) Objetivos específicos:	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
1.1 Tipo de investigación	17
1.2 Área de estudio	17
1.3 Tamaño de la muestra	18

1.4	Cuestionario	18
1.5	Muestreo	20
1.6	Toma de muestra	21
1.7	Seguridad de transporte	22
1.8	Análisis de muestra	22
1.9	Factores por considerar en la toma de muestras.....	24
1.10	Ética de trabajo	25
1.11	Análisis estadísticos	25
	Resultados	26
	Discusión	46
	Conclusión	54
	REFERENCIAS	56
	ANEXOS.....	70
	Protocolo de técnica de Flotación con sulfato de Zinc.....	70
	Protocolo de tinción Ziehl- Neelsen	73
	Registros de información del Muestreo	74
	Tabla de evaluación de bioseguridad en los predios según entrevista efectuada y evaluación en terreno.....	76
	Sistema básico de embalaje/envasado triple o triple embalaje	77
	CONSENTIMIENTO INFORMADO	78
	Solicitud para uso de laboratorios en la facultad de Medicina Veterinaria.....	79

Tabla de figuras

Figura 1. Ilustración del ciclo reproductivo del <i>Cryptosporidium</i> spp. (Ramírez-Navarro et al., 2023).....	4
Figura 2. Ilustración de la Comuna de Los Muermos, Albers, C. (2024)	17
Figura 3. Puntuaciones obtenidas de los predios, en temas de bioseguridad	28
Figura 4. Identificación de parásitos protozoos sospechosos de ser <i>Cryptosporidium</i> spp. en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.....	30
Figura 5. Hallazgos de otros tipos de parásitos protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025	31
Figura 6. Hallazgos de otros tipos de parásitos protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025	33
Figura 7. Hallazgo de otros tipos de parásitos que no son protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.....	34
Figura 8. Hallazgo protozoos no identificados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.....	35

Índice de tablas

Tabla 1. Escala de Evaluación del Nivel de Higiene	19
Tabla 2. Cálculo de contingencia:	25
Tabla 3. Tabla de contingencia	26
Tabla 4. Resultados de las puntuaciones de cada predio.....	27
Tabla 5. Distribución de Parásitos Identificados en Muestras Sospechosas por Predio.	29
Tabla 6. Resultados de las muestras por tinción Ziehl-Neelsen	32
Tabla 7. Tabla de contingencia en relación con el nivel de higiene con los antecedentes de los análisis coproparasitario.	36
Tabla 8. Tabla de contingencia respecto a la información recabada.....	37
Tabla 9. Pruebas de Chi-cuadrado, asociación entre predios con y sin PABCO.....	37
Tabla 10. Evaluación del nivel de higiene y productos desinfectantes, en los predios.	38
Tabla 11. Relación del producto desinfectante con la positividad ante <i>Cryptosporidium</i> <i>spp</i>	39
Tabla 12. Tabla de contingencia respecto la relación del sexo y su resultado positivo o negativo de los análisis efectuados.....	40
Tabla 13. Prueba de Chi-cuadrado para evaluar relación del sexo con el resultado de los análisis efectuados.	40
Tabla 14. Comparación de nivel de higiene en los predios con un encargado en terneras	41
Tabla 15. Relación entre puntos críticos para el resguardo de un nivel alto de Bioseguridad en predios	42
Tabla 16. Distribución de sistemas de crianza según nivel de higiene en los predios. ..	43
Tabla 17. Recopilación de los alimentos de los terneros en los predios en estudio.....	44
Tabla 18. Resultados de Chi-cuadrado efectuado	45

RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica que tiene como patógeno, de tipo parasitario, el *Cryptosporidium spp.* que debido a su incidencia puede causar un gran perjuicio a nuestra ganadería y, sobre todo, al ser humano. Cuando se sitúa en intestino delgado genera su replicación en las microvellosidades, ocasionando severos daños en estas, hasta el punto de generar problemas de absorción de nutrientes en el hospedador y por este mismo motivo genera la conocida diarrea acuosa secretoria.

En el presente estudio se efectuó en la Región de Los Lagos, en donde se escogerán parcelas/localidades de la comuna de Los Muermos por la disponibilidad de productores y por sistemas productivos heterogéneos, lo que permitió información más pertinente de la zona. Dado a esto, se pretendió a través del presente proyecto poder ahondar, cuantificar y/o clarificar la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* y ver si la bioseguridad puede ser un factor protector ante esto.

La prevalencia calculada fue de 13,04% de *Cryptosporidium spp.*, en los rebaños de terneros de la comuna de Los Muermos. Mediante microscopía directa usando el sistema de flotación y sedimentación con sulfato de Zinc al 33%.

Las medidas de bioseguridad y la prevalencia de este parásito fueron significativas en sentido que a mayor nivel de bioseguridad mayores valores protectores frente a la prevención de esto. Adicionalmente, que se requieren de protocolos rigurosos y aprobados por personal capacitado en el área debido a que las medidas que tienen estos predios son insuficientes de por sí solas, se deben enfocar en la alimentación, infraestructura y la salud animal para tener mayor rigurosidad para prevenir la presencia de *Cryptosporidium spp.*

Palabras clave: *Cryptosporidium spp.*, Prevalencia, Los Lagos, Zoonosis.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is a zoonotic disease that has as a pathogen, of parasitic type, *Cryptosporidium* spp. that given its incidence can cause great damage to our livestock and above all to man. When it is in the small intestine, it generates its replication in microvillines causing severe damage to these, to the point of generating problems of nutrient absorption in the host and for this same reason it generates the well-known secretory watery diarrhea.

In the present study, it will be carried out in the Los Lagos region, where plots/localities of the Los Muermos commune will be chosen due to the availability of producers and by heterogeneous productive systems, which will allow more relevant information in the area. Given this, it was intended through the present project to delve, quantify and/or clarify the prevalence of *Cryptosporidium* spp. and see if biosecurity can be a protective factor against this.

The calculated prevalence was 13.04% of *Cryptosporidium* spp., in the calf herds of the Los Muermos commune. By direct microscopy using the flotation and sedimentation system with zinc sulfate at 33%.

The biosafety measures and the prevalence of this parasite were significant in the sense that at a higher level of biosecurity greater protective values in the face of prevention of this. Additionally, rigorous protocols are required and approved by trained personnel in the area because the measures that these farms have are insufficient in themselves, they must focus on food, infrastructure, and animal health to have greater rigor to prevent the presence of *Cryptosporidium* spp.

Keywords: *Cryptosporidium* spp., Prevalence, Los Lagos, Zoonosis.

INTRODUCCIÓN

En el mundo, hay una diversidad de patógenos que infectan a un sinnúmero de individuos ocasionando severos problemas de salud en la población. Uno de los desafíos actuales que existen en torno a la salud, son los patógenos de enfermedades zoonóticas que cada vez son más relevantes en la sociedad actual debido a la intrínseca relación de humano-animal que son el origen de estas (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2024). Por estas mismas razones es que nace la necesidad de estudiar rigurosamente estos fenómenos para poder determinar los factores imprescindibles y asociados a su control, prevención y erradicación.

Una de estas enfermedades zoonóticas, la criptosporidiosis, la cual es ocasionada por un parásito protozoo del filo Apicomplexa del género *Cryptosporidium spp.*

1. ESPECIES DEL GÉNERO *CRYPTOSPORIDIUM SPP.*

Al hablar de este parásito, se debe resaltar que existen alrededor de 14 especies de *Cryptosporidium* diferentes en el mundo de las cuales las de mayor relevancia son *Cryptosporidium muris* que tiene como huésped los ratones y ratas, *Cryptosporidium parvum* su hospedador son los bovinos y el ser humano (este es una de las cepas zoonóticas), *Cryptosporidium hominis* afecta al ser humano, *Cryptosporidium meleagridis* afecta principalmente a aves, mamíferos y seres humanos (cepa que también es zoonótica), *Cryptosporidium serpentis* que afecta a los reptiles y *Cryptosporidium nesorum* su huésped natural son los peces (Baptista et al., 2021).

La implicancia de este género parasitario como zoonosis tiene una amplia involucración, debido a que se analizaron unos casos de *Cryptosporidium parvum* donde se informó el severo daño que ocasiona a nivel intestinal en terneros, de hecho, se visualizó en intestino que la mucosa se perdió y fue reemplazada por restos celulares de eosinófilos y que tenían ruptura en sus núcleos (cariorexis), además, que los vasos sanguíneos de la lámina propia estaban congestivos con leve infiltración linfocítica y neutrofílica (El- Deeb et al., 2022).

Otra particularidad que se debe destacar es que en el año 2020 en la Región del Bío-Bío se encontró la presencia de *Cryptosporidium parvum* en cholgas (*Aulacomya ater*) provenientes de cultivos y bancos naturales de extracción, si bien, no se demostró que el parásito se replique en el bivalvo, se comportaría como un vehículo de transmisión de Criptosporidiosis a la población chilena. Además, que se resalta el hecho de la severa contaminación de cuerpos de agua que incidiría a cuadros de esta enfermedad en la población (Suárez et al., 2020).

El mayor riesgo de esto radica en que hay antecedentes que en niños menores de 5 años se ven severamente afectados al tener *Cryptosporidium spp.*, esto debido a que existe una relación en que los problemas de absorción generan problemas nutricionales que predispone a infecciones secundarias de otros patógenos, además, que se relacionaría con problemas de crecimiento debido a las características de cuadro lo cual reduciría su altura máxima que podría llegar realmente. Asimismo, las enfermedades preexistentes que afectan el intestino delgado en niños pueden estar vinculados al desarrollo de cuadros crónicos de enfermedades parasitarias, como la criptosporidiosis (Khalil et al., 2018).

1.1 Ciclo de vida del *Cryptosporidium* spp.

Este parásito se contagia mediante el consumo de alimentos o aguas contaminadas con heces, en las cuales estén presentes los ooquistes, que son la forma infectante de este parásito y siendo este el único estadio que se encuentra libre en el ambiente (Hassan et al., 2021). Se caracteriza por poseer en su interior 4 esporozoitos recubiertos por una pared que se desintegra al ingresar al tracto digestivo del huésped, cuya finalidad es llegar al intestino delgado para generar su reproducción.

La pared que recubre a los esporozoitos pierde su estructura, debido a los cambios propios del proceso de digestión. Tales como: Cambios de osmolalidad, reacciones de enzimas gástricas, el pH del ácido gástrico del estómago, entre otros factores asociados a este sistema (Ramírez-Navarro et al., 2023).

Al momento de llegar al intestino delgado, los esporozoitos se liberan e infectan las microvellosidades, ya que, estas penetran el enterocito de la mucosa intestinal para adherirse a ella y convirtiéndose en trofozoíto. El estadio trofozoíto (reproducción asexual) de este parásito realiza su replicación en las microvellosidades del intestino delgado lo que ocasiona que se desplace el borde de las microvellosidades, generando necrosis de éstas (Bones et al., 2019).

Se genera un proceso de maduración, pasando de trofozoíto a esquizonte I en donde su núcleo se multiplica unas 8 veces para luego desplazarse los núcleos a lo largo de la superficie de las microvellosidades y volver a incrustarse, en ese periodo vuelve a madurar su núcleo unas 8 veces pasando a esquizonte II. El esquizonte II pasa a generar un merozoíto, éste se adhiere a la célula epitelial de un enterocito diferente, esto genera un proceso llamado gametogonia, la cual se divide en la formación de macrogonocitos (hembras) y microgonocitos (machos). El estadio merozoíto (reproducción sexual) penetra en las células entéricas, provocando necrosis celular (Bernal y Becerril, 2023).

En otras palabras, destruye y/o reduce el tamaño de las microvellosidades lo que puede conllevar a una pérdida de mucosas digestivas y por consiguiente una reducción en la absorción de nutrientes, lo que puede resumirse a una desnutrición en el hospedador (Radman et al., 2023).

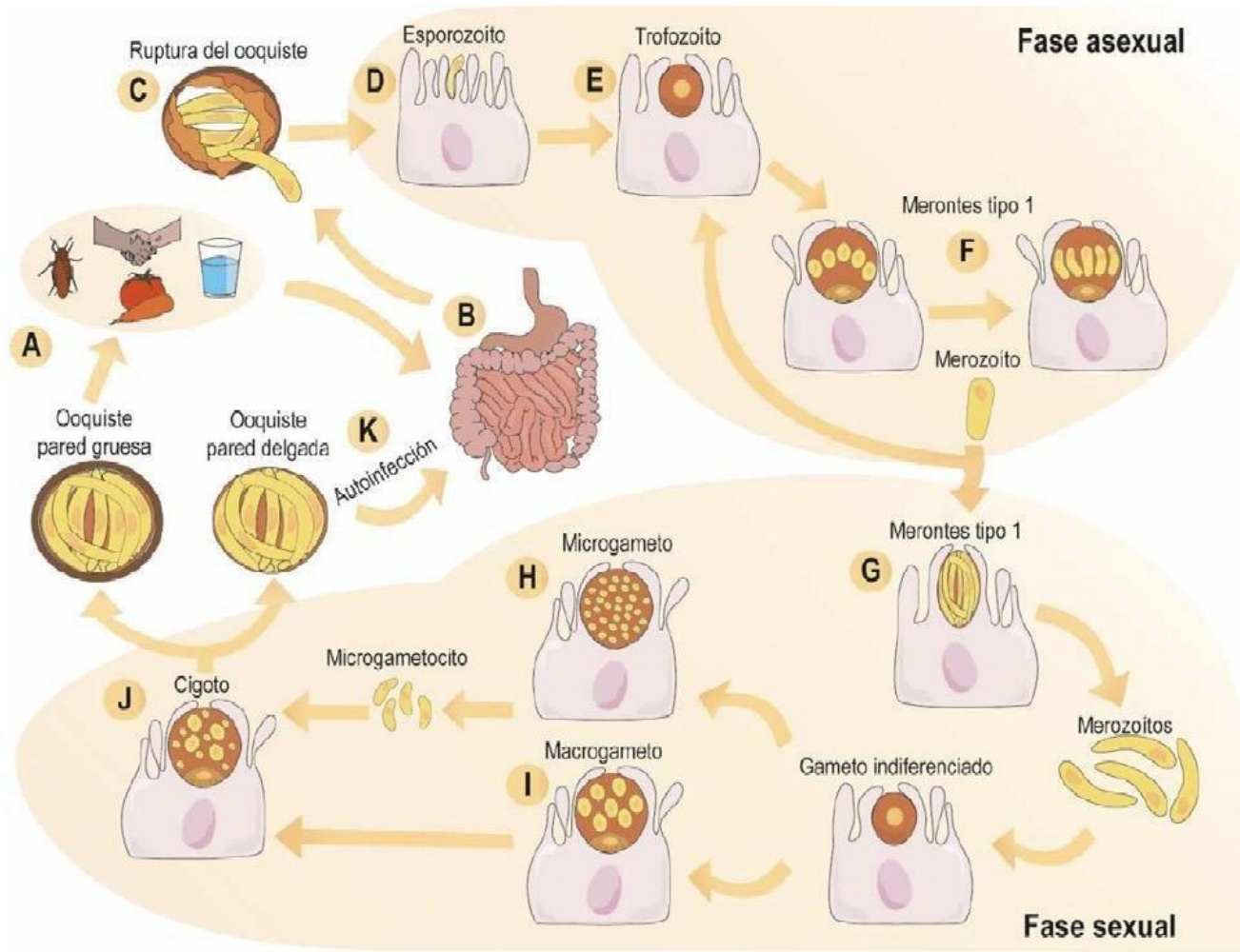


Figura 1. Ilustración del ciclo reproductivo del *Cryptosporidium* spp. (Ramírez-Navarro et al., 2023).

1.2 Etiología del cuadro parasitario

El daño que ocasiona este parásito en las microvellosidades intestinales genera un infiltrado inflamatorio liberando citoquinas e interleucinas que atraen mediadores, alteran la bomba sodio/potasio ocasionando que no se absorba el agua ni el sodio, pero, potenciando la secreción de agua y cloro. Dando origen a un signo característico de la criptosporidiosis, una diarrea acuosa secretoria (Bernal y Becerril, 2023).

No obstante, la semiología relacionada con la parasitosis tiene que ver más bien con el estado inmunológico del individuo, ya que, en pacientes inmunocomprometidos se ha observado cuadros con curso más agudo donde se compromete hasta el sistema respiratorio en humanos con VIH, a diferencia de los que no presentan tales falencias. Los individuos inmunocompetentes aparentemente sanos pueden presentar una forma asintomática o cuadros muy leves de la enfermedad (Helmy y Hafez, 2022).

1.3 Factores ambientales asociados a *Cryptosporidium spp.*

La forma de transmisión de esto se da mediante el contacto entre personas y animales, entre personas, alimentos contaminados con excremento o por contacto con superficies ambientales contaminadas (mayormente conocidos como fómites) (Real Academia Nacional de Medicina [RANME], 2024). Tiene diversos puntos de transmisión, sin embargo, diversos autores hablan de que mayormente se ha visto una incidencia de brotes por factores ambientales que contribuyen a su distribución en cuerpos de agua superficiales, los cuales comúnmente son utilizados por los agricultores y ganaderos (Berra et al., 2021).

El principal factor ambiental se encuentra ligado a la agricultura y deficiencias en sistemas sanitarios del lugar, esto principalmente por el uso de agua que no está bajo resguardos correspondientes. El sustento de esto se basa en que existe presencia de los ooquistes en aguas empozadas, lagos, pozos domésticos, entre otros (Bourli et al., 2023).

2. FACTORES INMUNITARIOS DEL HOSPEDADOR

Por otra parte, se han identificado factores del propio hospedador que contribuyen a la dispersión del patógeno, entre los cuales se encuentran la edad y el estado inmunitario. Uno de los determinantes en neonatos sería el destete, ya que se vio una relación directa entre el destete y la incidencia de *Cryptosporidium* en terneros en Brasil (Holsback et al., 2023).

A su vez, se ha descrito que *Cryptosporidium spp.* es capaz de colonizar individuos bovinos, los cuales puede contribuir como reservorio específico, siendo en terneros menores de 2 a 4 años en los que se ha observado una alta incidencia en contraer este parásito. No obstante, esto no significa que los adultos no sean un hospedador, de hecho, la diferencia radica en que en los neonatos se ve alta mortalidad a causa de este parásito (Bulla-Castañeda et al., 2024).

En los niños se observó, una alta incidencia de contraer este parásito por el contacto de animales infectados, dando a entender una relación intrínseca de edad y el contacto con ese patógeno (Lacsi y Joaquín, 2023).

En individuos inmunocomprometidos se ha observado un severo daño en su organismo relacionado a otras infecciones secundarias por otros tipos patógenos lo que exacerba los signos clínicos (Neira et al., 2012).

Teniendo en cuenta estos antecedentes respecto a *Cryptosporidium spp.*, se determinó que los individuos más vulnerables son los neonatos y los individuos inmunocomprometidos lo cual es especie independiente.

3. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.*

Su forma de diagnóstico se basa principalmente en la detección de ooquistes en las heces. El método predilecto para su detección es la tinción de frotis de las heces mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada, sin embargo, existen otros métodos de laboratorio como la inmunofluorescencia directa (IFD). Otras técnicas descritas son biología molecular en donde se incluyen las pruebas de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR) (Unzaga y Zonta, 2023). El uso de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), usado para detección de *Cryptosporidium spp.* se usa ampliamente con muestras de heces tanto en humanos como en animales, esto es debido a que no se requiere de altas concentraciones de ooquistes para su procesamiento y es más sensible que el uso de tinción Ziehl-Neelsen modificada, pese a eso, puede generar falsos positivos, requiere mucho tiempo de procesamiento y no se puede usar en muestras de agua para identificar parásitos (Hassan et al., 2020).

En cuerpos de agua también está descrito el uso de las pruebas por biología molecular o pruebas de laboratorio para su detección, sin embargo, la prueba de predilección para ver la presencia de los ooquistes de este parásito son el uso de la prueba PCR debido a que es más específica y sensible, además, de que solo necesita el ADN del patógeno para poder detectarlo y diferenciarlo de otras especies. Las desventajas notables de estos son la contaminación cruzada de la muestra durante el proceso de lectura del ADN (Fradette et al., 2022).

No obstante, a la hora de elegir un tipo de método de diagnóstico se suele optar por la técnica de Ziehl-Neelsen modificada esto debido a que la prueba en sí es más económica y rápida de realizar para la detección de la presencia de *Cryptosporidium spp.* A diferencia de los otros métodos de diagnóstico, como el PCR son más específicos y sensibles para detectar el *Cryptosporidium spp.*, sin embargo, el costo del examen se limita su uso en ámbitos prácticos. El uso de IFD suele usarse también para diagnosticar, sin embargo, suele tener un margen de error debido a que da falsos positivos y conlleva mucho tiempo el procesamiento (Abdou et al., 2022).

4. IMPACTO DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN LA GANADERÍA

En 2019 en Chile el Instituto Nacional de Estadísticas (INE) estableció que existían 3.108.089 cabezas de ganado, y la región con mayor porcentaje es la región de Los Lagos con un 39,1%. De acuerdo con esto, nuestra región tiene casi el 40% de la masa ganadera nacional por ende un factor preponderante de riesgo de *Cryptosporidium spp.* Además de condiciones climáticas que favorecen la presencia y desarrollo de este (González, 2020).

Como referencia podemos mencionar una experiencia de un sistema productivo lechero en México, se ha observado una prevalencia de 71,79% en vacas de ordeña y terneros recién destetados con la presencia de *Cryptosporidium spp* (López et al., 2020)

5. PROGRAMA DE SEGURIDAD EN PREDIOS

En los sistemas productivos a nivel nacional existen planes reguladores para la protección en la trazabilidad de la cadena alimentaria. En los predios de nuestro país, tienen medidas que provienen por parte del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) donde el programa que mayormente rige a la ganadería en Chile es el Programa de Planteles Bajo Certificación Oficial (PABCO) el cual tiene como objetivo asegurar que la trazabilidad de la cadena alimentaria sea segura para el consumo humano y que todo tipo de producto sea seguro para su exportación (Programa de Planteles Animales bajo Certificación Oficial [PABCO], 2024).

Los procedimientos que poseen se enfocan en la bioseguridad de las instalaciones durante cualquier procedimiento que exista en el predio (ya sea en higiene en los implementos como superficies), la alimentación ofrecida a los animales sea la más adecuada y segura para ellos, existan procedimientos para asegurar la salud animal y prevención de enfermedades dentro del predio, además, del uso de fármacos dentro del recinto y contabiliza la cantidad de animales dentro del recinto utilizando el Sistema de Información Pecuaria (SIPEC) en el país (Servicio Agrícola y Ganadero [SAG], (2010).

Se debe esclarecer que el PABCO es un programa oficial que no genera protocolos específicos, más bien, ofrece asesorías respecto lo que un productor debe hacer con su ganado para la inocuidad alimentaria. Sin embargo, no ofrece un protocolo oficial para cada una de sus actividades dentro de sus manejos agrícolas, así que los protocolos de los predios lo crean ellos mismos según las asesorías que han recibido.

La relación que se puede establecer entre los predios que tengan un plan de bioseguridad como sería lo que plantea el PABCO, proporcionaría una base para mantener la higiene en los recintos en donde se sitúen los terneros, una eficiente eliminación de las heces para evitar cualquier foco de contagio en los sistemas productivos, entre otras medidas referentes a PABCO lechero, en contraste, el PABCO bovino menciona el cuidado en el almacenamiento de los alimentos y sus respectivas medidas para evitar el contacto de estos con sustancias peligrosas. Estas regulaciones dentro de la pauta PABCO se enfocan en los posibles focos de infección de diversas enfermedades en los rebaños, por ende, si posee tales regulaciones se debiese tener en cuenta que los patógenos zoonóticos considerando los de denuncia obligatoria de SAG, no debiese estar presente en los predios.

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, al no existir focos de posibles contagios de enfermedades no se debiese encontrar el *Cryptosporidium spp.* en estos animales debido a las restricciones planteadas en estas pautas. Sin embargo, esto se vería vulnerado y el nivel de bioseguridad se vería afectado al tener alguna falla en algunos de estos puntos desencadenando alguna enfermedad.

Unas de las principales medidas de bioseguridad es el uso de antiparasitarios enfocados en *Cryptosporidium spp.* los cuales se describen cómo mejores tratamientos en Chile Parafor®CRYPTO (Paromomicina) y HALOCUR® (Halofuginona lactato). Esto es debido a que se tiene el conocimiento que estos productos son eficaces para el tratamiento en criptosporidiosis y son aprobados para el uso de animales en Chile. Existen otros tipos de productos que se usaban como tratamiento para de criptosporidiosis, sin embargo, se establece que no son tan eficaces por ende lo que se tiene como antiparasitario para *Cryptosporidium spp.* (Aydogdu et al., 2018).

La información pertinente de estos productos son los siguientes:

HALOCUR: Halofuginona de concentración de 0,50 mg/ml, solución oral (HALOCUR®, 2020).

- Indicaciones de uso: Para tratamiento y control de criptosporidiosis en terneros causada por *Cryptosporidium parvum* sensible a halofuginona.
- Especies de destino: bovinos, terneros recién nacidos.
- Administración: Por vía oral son 2 ml por cada 10 kilos corporal por día durante 7 días consecutivos. Se puede dar después o en conjunto con el alimento. No administrar con el estómago vacío, diarrea establecida por más 24 horas y en animales débiles.
- Periodo de resguardo en carne son 13 días.

Parafor®CRYPTO: Paromomicina sulfato: cada 1 ml contiene 200 mg de paromomicina, por vía oral (Veterquímica. (2023).

- Indicaciones de uso: Para tratamiento y prevención de criptosporidiosis.
- Especies de destino: Bovinos (terneros prerumiantes), Caprinos (cabritos prerumiantes y ovinos) (corderos prerumiantes).
- Administración: Por vía 2,5 ml del medicamento veterinario/10kg de peso vivo por día durante 7 días consecutivos.
- Periodo de resguardo: Carne en bovinos son 62 días, ovinos y caprinos son 28 días.

6. ANTECEDENTES DE PREVALENCIAS

La información disponible que se tiene al respecto de prevalencia esta más determinada por zonas geográficas y factores asociados a la presencia de *Cryptosporidium spp.* No obstante, se ha estipulado gracias a un metaanálisis una prevalencia mundial de *Cryptosporidium parvum*, se estimó que en Chile hay una prevalencia de 56,1% que a pesar ser un porcentaje alto sigue siendo uno de los más bajos respecto a otros países, sin embargo, a nivel de Región Sudamérica se sitúan en segundo lugar con las más altas prevalencias a nivel mundial con un número de 26,5% siendo que la prevalencia más alta es de Europa con un 30,7%. Aún así, hay sesgos en esto debido que se basan en análisis de estudios de *Cryptosporidium spp.* en cada país, siendo que no todos tiene los mismos niveles de recursos para estos tipos de estudios, por lo tanto, estos datos sólo son una estimación de prevalencias (Chen et al., 2023).

Ahora bien, si nos enfocamos en estudios de prevalencias enfocadas en terneros y en la búsqueda de *Cryptosporidium spp.* Se puede tener como referencia el estudio efectuado en Egipto, se estudió una muestra de 430 terneros de los cuales 81 salieron positivos a *Cryptosporidium spp.* por la presencia de ooquistes al efectuar el estudio de microscopía, dichas muestras fueron posteriormente confirmadas mediante el uso de PCR el cual arrojó un resultado positivo para *Cryptosporidium parvum* en las 81 muestras. Como resultado su prevalencia fue de 18,84% (81/430) en dicha zona de estudio. Los factores que se asociaron a esto fueron las malas condiciones sanitarias, la edad, el alimento, la aparición de cuadros diarreicos y la interacción con otros animales (Gattan et al., 2023).

La referencia más cercana a un estudio de la presencia de *Cryptosporidium spp.* en nuestra zona es el estudio de la Región de Los Ríos, en donde se determinó en una población de 275 muestras resultaron 30 positivas mediante tinción Ziehl-Neelsen, posteriormente fue confirmado mediante PCR arrojando un 46.6% (14/30) en la secuenciación de 18S rARN y 42.8% (6/14) en la secuenciación gp60. Todas las muestras dieron positivo a *Cryptosporidium parvum* (Painean-Peña et al., 2021).

7. GEOGRAFÍA DE LA ZONA

La Región de Los Lagos se encuentra en medio de dos regiones, al norte está la Región de Los Ríos y en el sur la Región de Aysén. Al lado oeste está el Océano Pacífico y al este la cordillera de los Andes que demarca la frontera de Chile y Argentina (Biblioteca del Congreso Nacional [BCN], 2005a).

Esta zona esta caracterizada por ser de clima templado lluvioso debido a la influencia del océano que bordea a esta región. Tiene abundantes precipitaciones durante el año en donde se acentúan en el periodo de invierno. Sus temperaturas dependen de la zona específica en donde se sitúen, ya que, más cercano a la cordillera en un clima más frío y húmedo que en las zonas más centrales son sectores más cálidos. En periodo de invierno son más de tipo frescos y los veranos son poco cálidos (BCN, 2005b)

Las actividades económicas se centran en la agricultura, ganadería y la acuicultura principalmente, dado que es una zona principalmente rural facilita este tipo de actividades en donde sale a resaltar los sistemas productivos de lechería (Yáñez., 2024). De hecho, esta región se considera la que tiene mayores números de productores en este rubro y, dentro de sus comunas sobresalen la comuna de Puerto Octay con un número de 298 productores y la comuna Los Muermos con un número de 205 productores (Asociación de Exportadores de Productos Lácteos [Exporlac], 2023).

8. RAZONES DEL ESTUDIO EN *CRYPTOSPORIDIUM SPP.*

La mayoría de los estudios en *Cryptosporidium* se enfocan en recopilar información de los factores que intervienen en su transmisión y como efectuar los métodos de diagnósticos en Chile. En este punto nace la necesidad de saber más al respecto de este parásito, sobre todo, en regiones en donde la agricultura y ganadería tienen mayor influencia como lo es el caso del sur de Chile.

Se ha identificado la presencia de este parásito (otros patógenos también) en cuerpos de agua subterránea que están cercanos a sistemas productivos debido al estiércol que se produce por los propios animales durante su estancia, entonces, dando a entender que es un factor predisponente al encontrar su presencia, incluso en sistemas que estén bajo un control epidemiológico (Alegbeleye y Sant'Ana, 2020).

En cuanto, respecto a las características ganaderas de nuestra región, específicamente hablando de producción bovina, tienen mucha importancia a la hora de definir medios de acción para con *Cryptosporidium spp.* Dado que por la orientación productiva tenemos sistemas de producción de carne, de leche y/ o doble propósito. Además, considerando el nivel de intensidad productiva de las explotaciones, se pueden clasificar como extensivas, semintensivas e intensivas, siendo así un factor preponderante a la hora de la incidencia de *Cryptosporidium spp.* Dado a la importancia que reviste el posible hacinamiento o concentración en un lugar determinado de individuos (Toro-Mujica y Vera-Infanzón, 2024).

Con estas evidencias, el presente estudio se enfocó en la frecuencia de esta enfermedad, entendiendo que la región de los Lagos es la región con mayor número de bovinos (Gráficas regionales, 2021). Al comprender este factor importante para la detección de este parásito, se puede establecer posibles focos de transmisión por el número de la población presente y determinar la eficacia de las medidas de bioseguridad.

HIPÓTESIS

Existiría menor número de infecciones de este parásito en predios con un mayor manejo de bioseguridad, además, esto se asociaría a un factor protector frente a *Cryptosporidium spp.* De lo contrario, no existiría una diferencia significativa en predios con un mayor manejo de bioseguridad al contrastar con otros con déficit de manejos de esta categoría, por lo tanto, esto no se asociaría necesariamente a un factor protector frente a *Cryptosporidium spp.*

OBJETIVOS

i) **Objetivo General:**

En el presente estudio se tuvo como planteamiento determinar la relación entre el uso de medidas de bioseguridad y la prevalencia de individuos de *Cryptosporidium spp.*

ii) **Objetivos específicos:**

1. Caracterizar y jerarquizar las parcelas/ localidades de acuerdo con las medidas de bioseguridad de los predios en estudio.
2. Determinar la presencia o ausencia de *Cryptosporidium spp.* en predios con regulaciones de medidas de bioseguridad.
3. Identificar los tipos de *Cryptosporidium spp.* que se encuentren en las muestras disponibles.
4. Evaluar la relación de las medidas de bioseguridad en la población de ganado con la prevalencia de *Cryptosporidium spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Tipo de investigación

Es un estudio descriptivo de tipo cuantitativo, observacional y de corte transversal (Manterola et al., 2023).

1.2 Área de estudio

Este estudio se realizó en la comuna de Los Muermos en 6 predios diferentes en esta zona, debido a que es una comuna con alto número de productores, donde hay una amplia variedad entre los productores pequeños y medianos (Yáñez, 2024).

La ubicación del centro de esta comuna se encuentra en latitud -41.3960568 y longitud -73.4617177 (Google Maps, 2024).

Comuna de Los Muermos

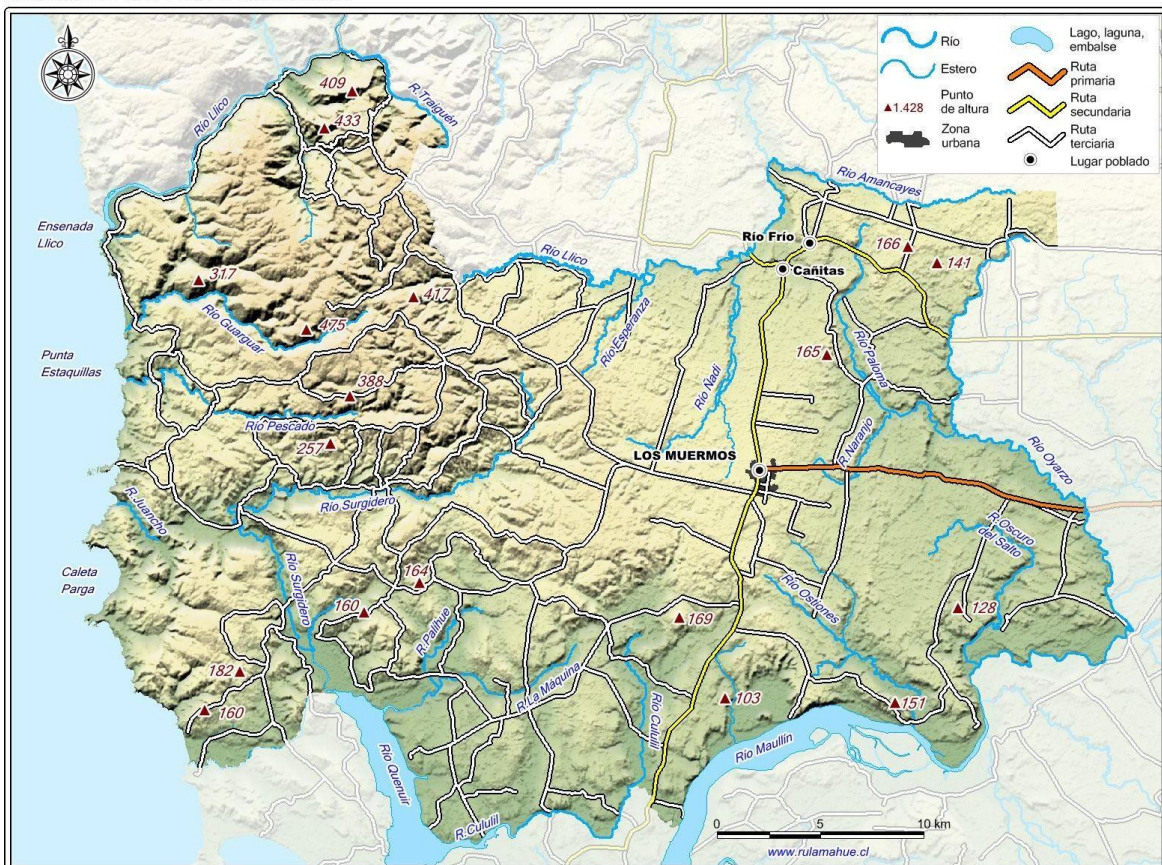


Figura 2. Ilustración de la Comuna de Los Muermos, Albers, C. (2024).

1.3 Tamaño de la muestra

Esto se realizó en el periodo de verano lo que corresponde al mes de enero del año 2025 a principios de otoño, en abril del 2025. Se tomaron las muestras en 10 predios diferentes de la comuna de Los Muermos, de la Región de Los Lagos.

Se tuvo en consideración una población de 135 terneros como total de estos predios en dicha época del año, en donde se seleccionó un número de 92 terneros como un número total de los cuales se les tomará la muestra correspondiente. Entonces, se seleccionó aproximadamente entre 10 a 20 terneros en cada predio de manera aleatoria que estén dentro de los factores incluyentes, para así tener una muestra variable de estudio.

El margen de error fue de 5% con un nivel de confianza de 90%, la proporción fue de 50%, esto en base al cálculo del número muestral utilizando software Epi info (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [CDC], 2024).

1.4 Cuestionario

Se efectuó una breve entrevista al encargado de las ternereras para recopilar información relacionada con la edad, el sexo, la alimentación, cambio en el comportamiento, consistencia de las heces y si ha observado alguna otra cosa que quiera agregar para el informe personal de cada ternero. Después se enfocó en recopilar la información del tipo de sistema en las ternereras si son de tipo estabuladas o son de rebaño al aire libre. Además, incluir en el informe la higiene que haya en lugar donde se encuentren los terneros basándose en los datos de Protocolos de Bienestar Animal para el sector lácteo (Sector Lácteo, 2021).

En caso de que los predios usen algún fármaco para el control del *Cryptosporidium spp.* se dejó en constancia en el informe de la entrevista.

Las entrevistas efectuadas incluyeron preguntas clave y evaluaciones propias a partir de protocolos PABCO, lo cual fueron fundamentales para poder determinar las medidas de bioseguridad en estos predios. Teniendo presente que para efectuar esto se debe considerar que el nivel de higiene refleja el grado de implementación y cumplimiento de dichas medidas, lo que directamente impacta en la seguridad sanitaria de los animales, personas y/o instalaciones evaluadas. Por lo tanto, a mayor nivel de higiene, mayor es el grado de bioseguridad presente.

Los puntos críticos en esta evaluación predial se enfocaron en normativas que tanto predio de PABCO Lechero como Bovino compartieran, y que se enfocaran en los manejos sanitarios en los terneros, tales como: Limpieza y la desinfección de áreas usadas por los animales; Control de vectores; Registros obligatorios de los manejos efectuados a los terneros (tanto de higiene como productos usados para tratamientos); Manejos de residuos; Evaluaciones sanitarias. Adicionalmente se usaron los antecedentes planteados por parte de “Protocolo de Bienestar Animal para el Sector Lácteo: Terneros y Terneras de Lechería” por parte de Consorcio Lechero para ejecutar una evaluación de sitio más exacta y adecuada para el presente estudio (SAG, 2024; Sector lácteo, 2021).

Para clasificar el nivel de higiene en los predios se estableció un sistema de puntuaciones que permitió jerarquizar los predios de acuerdo su nivel de bioseguridad, esto se estableció según el cumplimiento debido de las normativas preestablecidas por PABCO (Tabla 1).

Tabla 1. Escala de Evaluación del Nivel de Higiene

Rango de puntuación	Nivel de higiene	Clasificación higiene
13-14-15-16-17	Muy bajo	A
18-19-20-21-22	Bajo	B
23-24-25-26-27	Medio	C
28-29-30-31-32	Alto	D
33-34-35-36-37	Muy alto	E

Fuente: Elaboración propia, 2025

Teniendo en consideración que niveles alto y muy alto corresponden a que estos predios cumplen con todos los puntos focales de bioseguridad que se plantean en la evaluación de sitio (para mayores detalles, observar en anexos) como, por ejemplo: buena iluminación, no ingresan corrientes de viento, camas cómodas y secas de los terneros, comederos y bebederos limpios, etc. Por otra parte, el nivel medio significa que cumple con la mayoría de estos puntos completamente o son cierta deficiencia. Los niveles bajo y muy bajo indican que gran parte de los puntos de bioseguridad no cumplen apropiadamente o no cumple en absoluto, respectivamente.

1.5 Muestreo

El tipo de muestreo que se efectuó es no probabilístico de conveniencia dado que se selecciona un grupo de predios que estaban dispuestos a participar en el estudio del total a nivel comunal (Stewart, 2024).

Para generar una selección de los terneros de forma aleatoria, se utilizó la base de datos del predio usando el Dispositivo de Identificación Individual Oficial (DIIO) de los terneros que entren en los factores de inclusión correspondientes. Una vez obtenido los DIIO de los animales disponibles, se usó el software de Excel para posicionar los datos en una columna y en otra columna se usó la fórmula “= ALEATORIO.ENTRE (inferior; superior)” para efectuar la selección de datos (Función ALEATORIO.ENTRE - Soporte técnico de Microsoft, 2024)

Se seleccionó el DIIO con menor cifra y el de mayor cifra para incluirlo a la fórmula, una vez efectuado este paso se desplegará el listado con los 10 números que se requieran para el muestreo aleatoriamente y se copiarán los números que aparezcan en ese listado para copiarlos en la siguiente columna como solo valores. A partir de ese número se estableció los animales a muestrear.

No obstante, dado que lo anterior sirve para número que sean consecutivos entre sí, se optó por otro tipo de fórmula que el software de Excel permite generar la cual es “INDICE ((Selección del listado de números); ALEATORIO.ENTRE(inferior; superior))”, la característica de esta fórmula que permite con mayor exactitud dar números aleatorios y sin la necesidad que los números sean consecutivos. De todas formas, al usar ambas fórmulas dan una mayor facilidad al momento de generar los números necesarios para muestrear.

1.6 Toma de muestra

Antes que nada, dado que es un parásito que ocasiona una enfermedad zoonótica se tienen que tomar ciertas medidas de protección para evitar contraer este parásito, dado las características que sus medios de transmisión se debió implementar unas antiparras o protección facial completa para evitar microgotas de heces de posibles portadores en contacto con los ojos, mascarilla Kn95 (debido que son de segundo nivel de protección ante patógenos), guantes estériles, batas desechables, cubre calzado para el área de extracción (Meechan y Potts 2020)

Para la realización de la extracción de la muestra se hizo mediante la utilización de guantes de plástico estériles, las heces individuales de cada ternero se recogerán directamente del recto y se conservarán en un envase hermético de 60 ml con una solución de formol al 5% en solución salina para preservar de mejor manera la integridad de los ooquistes hasta la llegada al laboratorio donde fueron evaluados (Benavides, 2013). Fueron alrededor de 10 gramos la cantidad de las muestras que se extrajeron de cada ternero para tener la cantidad necesaria para ambas pruebas de ser necesario.

1.7 Seguridad de transporte

Se efectuó un protocolo de transporte de muestra para evitar que los residuos pueda filtrar y generar algún tipo de riesgo de bioseguridad. Dado que estas muestras pueden contener *Cryptosporidium spp.* y tuvieron formalina, se clasificaron como sustancia infecciosas categoría B dado que puede ocasionar daño en la salud humana como animal, pero no son potencialmente mortales. El sistema de embalaje de transporte básico es triple embalaje en este caso, se encuentra dicha información más detallada en la parte de anexos (Instituto de Salud Pública de Chile [IPSCH] Guía de bioseguridad para laboratorios clínicos, 2021).

1.8 Análisis de muestra

Se usó el sistema de flotación, ya que, esto permite maximizar la búsqueda de los ooquistes en las heces. Al usar la solución de sulfato de zinc (ZnSO_4) provoca una diferencia de densidad lo que permite la flotación de los ooquistes, debido a ese fenómeno se logra diferenciar con otros componentes fecales. El procedimiento básico se basa en mezclar una pequeña cantidad de heces con una solución de sulfato de zinc, esto se lleva a una centrífuga para provocar que los ooquistes se sitúen en la superficie de la solución.

Una vez efectuado esto, se usa un portaobjeto para poner una pequeña porción de este líquido con los ooquistes y se dejan secar al ambiente para luego efectuar su examen microscopía que se complementará con una tinción (Inês et al., 2016). Para mayor detalle esta descrito en los anexos.

Ahora bien, la primera prueba que se utilizó para la búsqueda de la presencia de *Cryptosporidium spp.* será mediante microscopía óptica directa, el cual permite ver la estructura superficial del parásito, es decir, su estructura de la membrana plasmática. Si bien este proceso es un poco más complejo para visualizar. Aun así, está descrito de

que es útil para la identificación de ciertos parásitos, como en este caso el *Cryptosporidium spp.*

Para la identificación de especies de *Cryptosporidium spp.* en las muestras se utilizó el método de tinción Ziehl-Neelsen modificada, la razón radica en que este tipo de tinción permite la visualización de los ooquistes por medio de microscopía por la reacción que ocasiona en la pared celular de los microorganismos alcohol-ácido resistentes, es su pared celular hay cadenas de ácidos grasos y retienen con mayor facilidad la tinción. Esto genera que los ooquistes se vean de una tonalidad rojiza intensa en el portaobjeto (González et al., 2020; Martínez-Gordillo et al., 2023). La información respecto cómo es el procedimiento está en la parte de anexos. Para confirmar la veracidad de los resultados que se obtengan las muestras, pasarán por esta tinción tres veces antes de dictaminar la especie correspondiente que se estime.

En el presente estudio se utilizó el método de identificación por microscopía, ya que, es más económico y fácil de utilizar. Este método nos puede dar una estimación de la especie que se está visualizando en la muestra por la diferencia de tamaño de los ooquistes; cuando miden entre 4 a 5 micras corresponde a *Cryptosporidium bovis* (tamaño muy similar a *Cryptosporidium parvum*) y cuando mide entre 6 a 9 micras corresponde a *Cryptosporidium muris*.

Otro factor que nos aproxima aún más a la especie de *Cryptosporidium spp.* es la información con respecto a que animal presentó positividad en microscopía y si su entorno predispone para un contagio de una cepa diferente a la que se esperaría encontrar (Jorgensen et al., 2015). Por lo tanto, se centra más que nada en la evaluación de la presencia y ausencia parásito, es decir, la frecuencia de este parásito y esto a su vez nos permite poder calcular la prevalencia de este parásito según estos parámetros.

Se identificaron con un microscopio binocular, la búsqueda fue con objetivo 10x/0,60 y su confirmación con un objetivo de 40x/0,65.

1.9 Factores por considerar en la toma de muestras

Ahora bien, el muestreo fue de tipo por cuotas, debido a la selección de ciertas características que deberán tener los individuos para ser considerados en esto.

- a) Factores incluyentes: Terneros de la Comuna de Los Muermos, mayores de 5 días hasta el año y medio de vida. Incluyendo a los terneros que hayan pasado 2 meses desde el ultimo tratamiento farmacológico enfocado en *Cryptosporidium spp.*
- b) Factor excluyente: Terneros que sean fuera de la Comuna de Los Muermos, que sean Mayores de 2 años y menores de 5 días de vida. Incluyendo a los terneros que estén bajo tratamiento farmacológico enfocado a *Cryptosporidium spp.*

Se incluyen a los terneros de hasta un año y medio de vida en factores incluyentes, sin embargo, sobre esta edad quedan en el factor excluyente. Esto es debido a que en varios estudios sobre el rango etario más propenso a contraer este parásito son los terneros más jóvenes de 2 semanas de vida en promedio y los terneros menores de 2 años (Gao et al., 2023; Lombardelli et al., 2019).

Aún así, respecto al periodo posterior del tratamiento farmacológico en *Cryptosporidium spp.* se debe a que el periodo de vida útil de estos son en promedio 2 meses y requieren de repetición para mantener al animal libre de esto.

1.10 Ética de trabajo

El presente estudio se guio bajo las cinco dominios para resguardar el bienestar animal de los terneros que serán muestreados, por lo tanto, se centra en guiarse bajo estos términos (*Bienestar animal*, 2023). Además, esto incluyendo un consentimiento escrito que acreditó que solo se efectuó extracción de muestras, todo bajo anonimato y su uso es exclusivo para este estudio, esta con mayor descripción en los anexos.

1.11 Análisis estadísticos

Dado las características de este estudio, solo describe los sucesos que se obtengan a partir de las muestras, por lo tanto, podemos calcular la prevalencia a partir de esto y otras variables relacionada con la tendencia del cuadro de criptosporidiosis. Entonces, para evaluar los resultados se efectuó a partir de cálculos prevalencia y cálculos de contingencia (tabla 2x2) para observar si existe una relación entre el sexo del ternero con la positividad del cuadro infeccioso (Fuentes Ferrer y Prado González, 2013).

Fórmula de prevalencia:

$$P = \frac{\text{Número de individuos con la enfermedad}}{\text{Número total de la población de estudio}}$$

Fuente: Elaboración propia, a partir de *Indicadores de Nivel de Salud*, 2016 .

Tabla 2. Cálculo de contingencia:

	Hembras	Machos	Total
Positivos	A	B	(A+B)
Negativos	C	D	(C+D)
Total	(A+C)	(B+D)	(A+B+C+D)

Fuente: Elaboración propia, a partir de Indicadores de Nivel de Salud, 2016

Para poder evaluar que exista entre el poseer PABCO y la presentación de este parásito en predios agrícolas, se utilizará otra tabla de contingencia.

Tabla 3. Tabla de contingencia

	Predios PABCO Lechero y/o Carne	Predios sin PABCO	Total
Positivos	A	B	(A+B)
Negativos	C	D	(C+D)
Total	(A+C)	(B+D)	(A+B+C+D)

Fuente: Elaboración propia, 2024

Alternativamente, se ocupó la prueba de Chi-cuadrado para la asociación de ciertas variables, teniendo en consideración que es una prueba estadística no paramétrica es utilizada para determinar si existe una relación estadísticamente significativa entre dos variables. Esto es factible debido que uno de sus requisitos es tener frecuencias que se puedan organizarse en tablas de contingencias para su posterior análisis.

Estas dependen de una hipótesis nula (H_0) la cual indica que ambas variables no poseen asociación entre ellas, y de una hipótesis alternativa (H_1) la cual indica que existe una asociación significativa entre variables (Field, 2024).

Esta prueba compara frecuencias observadas de la tabla de contingencia con las frecuencias esperadas, lo cual se cuantifica con un p-valor. Se interpreta los resultados según el nivel de significancia el cual para efectos de este estudio será de $\alpha=0.05$, por lo tanto, un valor menor que 0,05 se rechaza la hipótesis nula y se considera la hipótesis alternativa. Por el contrario, el valor es mayor o igual a α se considera que no hay una asociación significativa entre las variables por lo que se acepta la hipótesis nula (Moore et al., 2021).

RESULTADOS

1. Caracterizar y jerarquizar las parcelas/ localidades de acuerdo con las medidas de bioseguridad de los predios en estudio.

Los datos obtenidos corresponden a resultados de muestreos efectuados en seis de los diez predios, ya que, se excluyeron los otros cuatro predios debido a que no presentaban los requisitos incluyentes, planteados con anterioridad para ser parte de este estudio. Otro antecedente por considerar es que son predios de terneros exclusivamente lecheros, por lo tanto, el sistema de crianza es artificial (No se crían al pie de la vaca).

Dada la información pertinente que se ha recabado, se visualiza una tendencia a nivel de higiene de medio a alto, debido a que se identificó que el 50% (3 de 6 predios) correspondió a un nivel alto de higiene, seguido de un 33,3% (2 de 6 predios) en nivel medio de higiene y solo un 16,6% (1 de 6 predios) de los predios con un nivel de higiene bajo (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de las puntuaciones de cada predio.

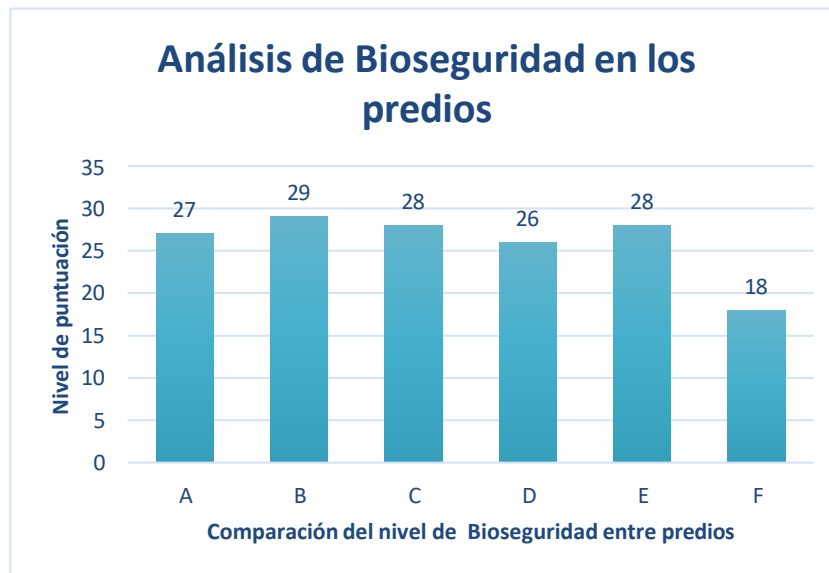
Predios	Puntuación	Nivel de higiene
A	27	Medio
B	29	Alto
C	28	Alto
D	26	Medio
E	28	Alto
F	18	Bajo

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Las puntuaciones se basaron en la evaluación del lugar donde estaban los terneros y de las entrevistas que se le realizaron a cada encargado de las terneras o al administrador, donde se fueron puntuando según la frecuencia de la higiene en el ambiente, manejos

sanitarios y de la alimentación que se le ofrece a cada ternero. Los predios B, C y E correspondieron a un nivel alto de higiene, los predios A y D, correspondieron a nivel de higiene medio y finalmente, el predio F es aquel con un nivel de higiene bajo (Figura 3).

Figura 3. Puntuaciones obtenidas de los predios, en temas de bioseguridad.



Fuente: Elaboración propia. 2025.

2. Determinar la presencia o ausencia de *Cryptosporidium spp.* en predios con regulaciones de medidas de bioseguridad.

El total de muestras obtenidas fue de 92, de las cuales 12 muestras (13,04%) resultaron positivas a *Cryptosporidium spp.* Adicionalmente, se detectaron otros parásitos en 11 muestras, algunos de ellos coexistiendo con *Cryptosporidium spp.*

En cuanto a los hallazgos parasitarios adicionales, de los cuales fueron identificados 3 muestras positivas a *Eimeria spp* (3,3 %), 3 muestras positivas a *Moniezia spp* (3,3%), 1 muestra con un huevo de nematodo (1,1%) y 4 muestras con la presencia de un protozoo no identificado (4,35%). Finalmente, 69 muestras no presentaron hallazgos parasitarios.

Predio	Muestras sospechosas	Protozoos	Huevos de Helmintos	Sin clasificar
--------	----------------------	-----------	---------------------	----------------

E	649	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
E	652	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
E	656	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
E	663			Huevo <i>Moniezia</i> spp.	
F	1280	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Eimeria</i> spp.	Huevo, <i>Moniezia</i> spp.	
F	1281	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
F	1282				Protozoo
F	1284	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
F	1286	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Eimeria</i> spp.		
F	1287	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Eimeria</i> spp.		
F	1288	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Eimeria</i> spp.		
A	3120				Protozoo
A	3136				Protozoo
A	3147	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
A	3163				Protozoo
F	3407	<i>Cryptosporidium</i> spp.		Huevo <i>Moniezia</i> spp.	
F	3412	<i>Cryptosporidium</i> spp.			
B	5775			Huevo de nematodo	
B	7208				Ácaro oribátido

Tabla 5. Distribución de Parásitos Identificados en Muestras Sospechosas por Predio.

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos que se obtuvieron en los análisis, 2025.

A partir de los cálculos pertinentes a las prevalencias de esto se evaluarían de esta forma:

$P = \frac{12}{92}$ La prevalencia de todos los predios analizados correspondió a un 13%.

3. Identificar los tipos de *Cryptosporidium* spp. que se encuentren en las muestras disponibles.

3.1 Identificación y clasificación de muestras para segunda prueba.

Se evaluó cada muestra por microscopía directa como primera prueba, para la búsqueda de los ooquistes de *Cryptosporidium spp.*, por lo tanto, solo se identificó inicialmente a nivel de género estos protozoos debido a que solo es una prueba para reconocer muestras sospechosas de este parásito para luego pasar a la segunda prueba la cual es la tinción Ziehl-Neelsen.

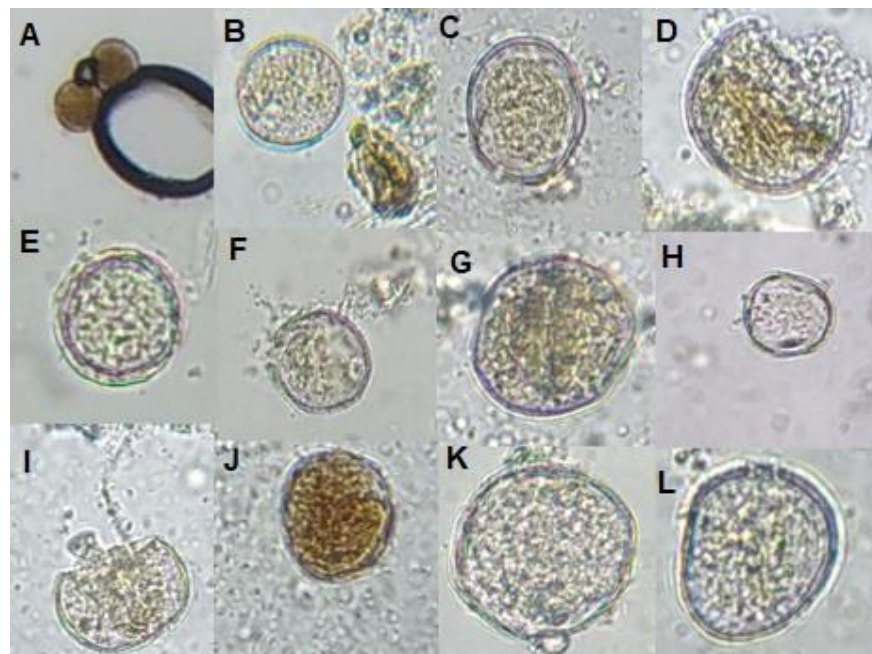


Figura 4. Identificación de parásitos protozoos sospechosos de ser *Cryptosporidium spp.* en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.

La muestra A) Muestra 3147; B) Muestra 1280; C) Muestra 1287; D) Muestra 3407; E) muestra 0649; F) Muestra 1288; G) Muestra 3412; H) Muestra 0652; I) Muestra 1284; J) Muestra 1286; K) Muestra 0656; L) Muestra 1281. (400x). [Se tomó la fotografía dentro del laboratorio clínico de análisis de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia] [08/05/2025].

3.2 Identificación y comprobación de las muestras sospechosas a *Cryptosporidium* spp.

Las doce muestras que se identificaron sospechosas a *Cryptosporidium* spp. anteriormente se pasaron por la tinción correspondiente, se examinaron bajo microscopía directa para medir y estimar las especies correspondientes según este parámetro.

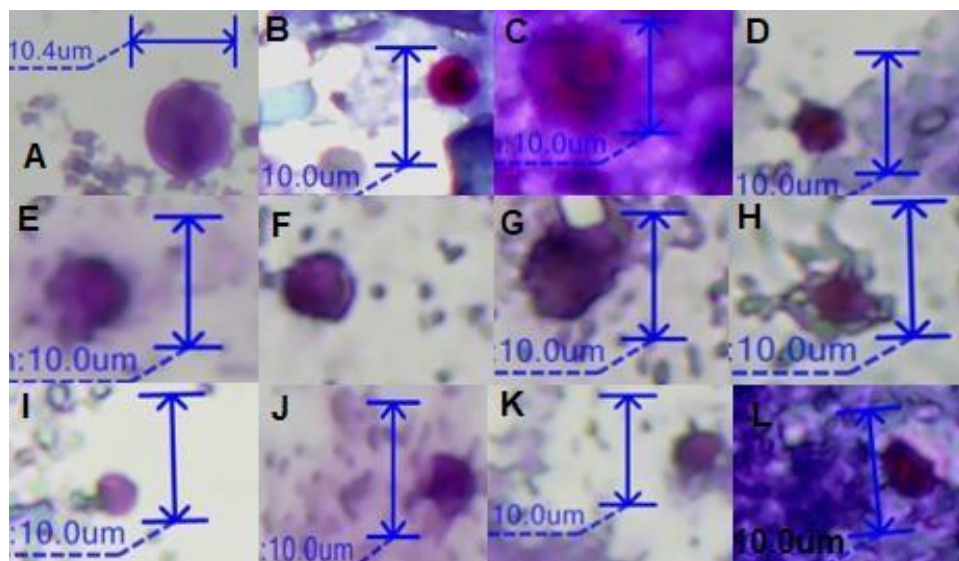


Figura 5. Hallazgos de otros tipos de parásitos protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.

Microscopía óptica de los análisis coproparasitario: A) Muestra 1281; B) Muestra 1286; C) Muestra 1287; D) Muestra 1280; E) muestra 3147; F) Muestra 3407; G) Muestra 1288; H) Muestra 0649; I) Muestra 0652; j) Muestra 1284; K) Muestra 0656; L) Muestra 3412. (400x). [Se tomó la fotografía dentro del laboratorio de análisis de Histopatología Animal de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia] [19/06/2025].

De acuerdo con las mediciones efectuadas se estima que debiesen ser *Cryptosporidium parvum* y/o *Cryptosporidium bovis* las imágenes B, D y H, según la literatura estas especies miden entre 4 a 5 micras, sin embargo, pueden ser un poco más pequeñas de lo que se tiene como promedio. Las mediciones de estas muestras señaladas son: 1286 (B) mide 3,8, la muestra 1280 (D) mide 4,2 y la muestra 0649 (H) mide 3,8 micras.

Esto quiere decir que las 12 pruebas positivas al género *Cryptosporidium*, 3 muestras de (25%) corresponden a las especies identificadas, el 75% (n=9) corresponde a otra especie de *Cryptosporidium* no identificada. Sin embargo, como es una segunda prueba se consideró el resultado de los coproparasitarios como positividad definitiva debido a problemas con la tinción.

Al analizar estas doce muestras que fueron positivas en el análisis coproparasitario por tinción Ziehl-Neelsen, la cual se ejecutó 3 veces para comprobar los resultados obtenidos.

Se determinó que la muestra era confirmatoria para distinguir la especie posible de *Cryptosporidium spp.* mediante por ciertos estándares para determinar la especie como: el tipo de coloración, tamaño de su radio y si mantenía forma esférica. Esto fue ordenado en los resultados en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de las muestras por tinción Ziehl-Neelsen.

Muestra	Coloración	Tamaño	Forma	Resultado
649	Rojiza	3,8	Piriforme	Positivo
652	Morada	3,9	Esférica	Dudoso
656	Morada	4,4	Ovoide	Negativo
1280	Rojiza	4,2	Esférica	Positivo
1281	Morada	8,7	Esférica	Negativo
1284	Morada	4,1	Ovoide	Negativo
1286	Rojiza	3,8	Esférica	Positivo
1287	Rosada / morada	9,2	Circular	Dudoso
1288	Morada	6,2	Ovoide	Negativo
3147	Morada	6,2	Ovoide	Negativo
3407	Morada	5,1	Ovoide	Negativo
3412	Rojiza	4,4	Piriforme	Dudoso

Fuente: Elaboración propia, 2025.

3.3 Identificación de otros tipos de parásitos a nivel de género en las muestras coproparasitarios efectuados.

Se consiguió observar bajo microscopía otros tipos de parásitos protozoos que se identificaron como *Eimeria* spp, este parásito también genera las diarreas en terneros, con signos similares a los de criptosporidiosis (Tamrat et al., 2020). Se observaron tres formas diferentes de presentación en las muestras, siendo que existen formas piriformes (B y D), forma ovoide (A) y forma esférica (C), son formas comunes de observar en un análisis coproparasitario. En cuatro muestras que fueron descritas anteriormente resultaron positivas para este parásito, sin embargo, solo se mostraron las cuatro formas de presentaciones que más se reiteraron en las muestras.

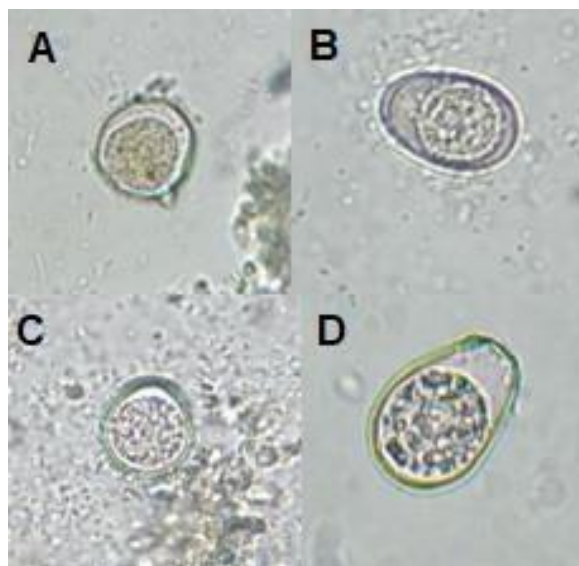


Figura 6. Hallazgos de otros tipos de parásitos protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.

Microscopía óptica de los análisis coproparasitario: A) *Eimeria* spp, forma común ovoide; (muestra 1288); B) *Eimeria* spp, forma piriforme (muestra 1280); C) *Eimeria* spp, forma esférica (muestra 1286); D) *Eimeria* spp, forma piriforme (aumento de 400x) (muestra 1287). Todos fueron con un aumento de 200x. [Se tomó la fotografía dentro del laboratorio clínico de análisis de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia] [08/05/2025].

Otros hallazgos que se examinaron en las muestras fueron la presencia de huevos de cestodos y de nematodo, adicionalmente, se identificó un ácaro oribátido.

Teniendo en cuenta el ciclo de vida de *Moniezia spp*, el hallazgo del ácaro pudiese ser un indicio de posible factor de riesgo de la presencia de *Moniezia spp* en los rebaños, ya que, este ácaro es un huésped intermediario cuando ingieren los huevos de *Moniezia spp*. En su cuerpo, los huevos se desarrollan hasta la fase larval infectante (cisticercoide) en unas 2-4 semanas y son consumidos accidentalmente por los rumiantes al consumir el heno donde suelen habitar (Almeida-Caicedo et al., 2023). En donde el parásito se desarrolla hasta adulto.

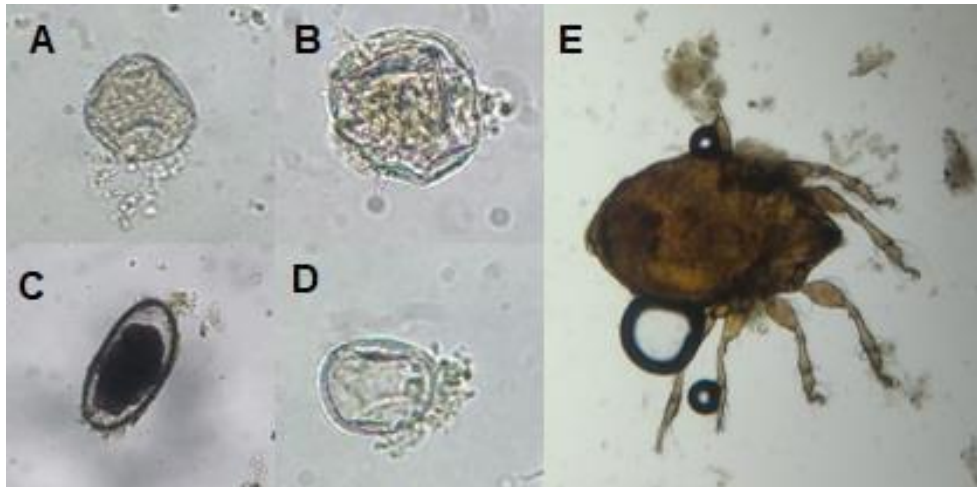


Figura 7. Hallazgo de otros tipos de parásitos que no son protozoos encontrados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.

Microscopía óptica de los análisis coproparasitario: A) Huevo de *Moniezia spp* (muestra 0663); B) Huevo de *Moniezia spp* (muestra 1280; aumento 400x); C) Huevo de nemátodo con forma ovoide (muestra 5775) D) Huevo de *Moniezia spp* (muestra 3407); E) Ácaro oribátido, se observan extremidades faltantes en el individuo (7208); Todos fueron con un aumento de 200x. [Se tomó la fotografía dentro del laboratorio clínico de análisis de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia] [08/05/2025].

3.4 Muestras que fueron examinadas y no se determinó qué tipo protozoos correspondía.

Hubo cuatro muestras en las cuales se obtuvo un hallazgo de tipo parasitario, pero que no se logró identificar a qué género correspondían, se deja como registro de estos hallazgos.

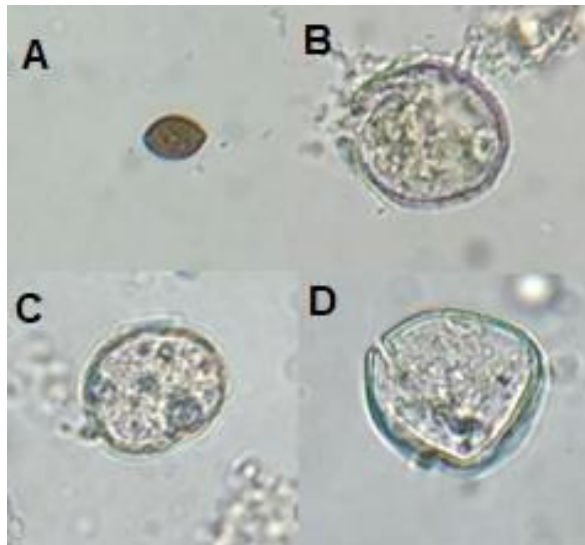


Figura 8. Hallazgo protozoos no identificados en las muestras. Fuente: Elaboración propia, 2025.

Microscopía óptica de los análisis coproparasitario: A) (Muestra 3163) Tiene una coloración rojiza con forma ovoide; B) (Muestra 3136) Posee un opérculo prominente; C) (muestra 1282) Tiene contenido de materia vegetal en su interior; D) (muestra 3120) Su borde externo tiene una coloración azulada y contiene materia vegetal en su interior. Todos fueron con un aumento de 400x. [Se tomó la fotografía dentro del laboratorio clínico de análisis de la Universidad San Sebastián, Sede de la Patagonia] [08/05/2025].

4. Evaluar la relación de las medidas de bioseguridad en la población de ganado con la prevalencia de *Cryptosporidium spp.*

4.1 Relación entre medidas de bioseguridad y hallazgos positivos de *Cryptosporidium spp.*

Para contrastar la positividad en las muestras en relación con la bioseguridad en los predios se efectuó una serie de análisis que se plasmaron de la siguiente forma. En referencia a los antecedentes planteados se logra visualizar que la frecuencia más alta de terneros positivos a *Cryptosporidium spp.*, ocurre en el predio con un nivel de higiene bajo (frecuencia 80%). Sin embargo, se detectó positividad en un 30% de las muestras en un predio con nivel alto de higiene (Tabla 7) y un 5% en un predio con nivel medio de higiene.

Tabla 7. Tabla de contingencia en relación con el nivel de higiene con los antecedentes de los análisis coproparasitario.

Predios	Puntuación	Nivel de higiene	Positivo	Negativos	Total	Frecuencia de los positivos
A	27	Medio	1	19	20	5%
B	29	Alto	0	20	20	0%
C	28	Alto	0	10	10	0%
D	26	Medio	0	22	22	0%
E	28	Alto	3	7	10	30%
F	18	Bajo	8	2	10	80%

Fuente: Elaboración propia, 2025

4.2 Relación de otras variables presentes en los predios en relación con los hallazgos positivos de *Cryptosporidium spp.*

I Presencia de PABCO y su relación con hallazgos positivos a *Cryptosporidium spp.*

Dentro de los Predios con PABCO (n=42), 12 terneros salieron positivos a *Cryptosporidium spp.* representando el 28,6% de los terneros muestreados y 30 de los individuos negativos de este grupo, representando el 71,4%. Por otra parte, en el grupo de los predios sin PABCO (n=50), todos salieron negativos para las pruebas coproparasitológicas representando el 100% del total de terneros muestreados, con 0% de positividad (Tabla 8). Se evaluó con chi-cuadrado para ver si existía una asociación entre la positividad de los análisis a *Cryptosporidium spp.* con poseer PABCO o no, dando como resultado que sí existe una asociación al respecto y que la mayor positividad se dio en predios con PABCO (Tabla 9).

Tabla 8. Tabla de contingencia respecto a la información recabada

	Terneros de predios PABCO Lechero y/o Carne (A; D, E, F)	Terneros de predios sin PABCO (B; C)	Total
Positivos	12	0	12
Negativos	30	50	80
Total	42	50	92

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Tabla 9. Pruebas de Chi-cuadrado, asociación entre predios con y sin PABCO.

Tabla de Frecuencias Esperadas			
	PABCO	No PABCO	Total
Positivos	5,48	6,52	12
Negativos	36,52	43,48	80
Total	42	50	92

Fuente: Elaboración propia, 2025.

II Productos de Sanitización en Corrales de Terneros y Salas de Parto según Predio.

Un aspecto relevante dentro de los manejos sanitarios observado en los distintos predios corresponde a la elección del producto desinfectante utilizado para la limpieza de los corrales destinados a los terneros y salas de parto. Cada establecimiento presenta una preferencia particular en cuanto al desinfectante usado, lo cual forma parte de sus protocolos de higiene. Además, la frecuencia del cambio de camas, las cuales ya fueron evaluadas con anterioridad de todas formas, la evaluación detallada de frecuencia y aplicación se encuentra en los anexos, los resultados son los siguientes (Tabla 10):

Tabla 10. Evaluación del nivel de higiene y productos desinfectantes, en los predios.

Predios	Puntuación	Nivel de higiene	Producto desinfectante usado	Procedimiento de uso
A	27	Medio	DUPLALIM/ Pintacal ¹	Cada cambio de cama / 2 veces al año
B	29	Alto	Hidróxido de calcio ²	Cada cambio de cama
C	28	Alto	DRYQUAT ³	Cada cambio de cama
D	26	Medio	DUPLALIM ³	Cada cambio de cama
E	28	Alto	DUPLALIM/Pintacal ¹	Cada cambio de cama/ 2 veces al año
F	18	Bajo	DUPLALIM	Cada cambio de cama

Fuente: Elaboración propia, 2025.

¹: En estos predios usan DUPLALIM cada vez que se cambia la cama para desinfectar, sin embargo, el Pintacal es 2 veces al año que se usa en los corrales.

²: Este producto lo usan en las camas una vez que las limpian sobre la paja, esperan un tiempo antes que los terneros las ocupen.

³: Estos predios los utilizan cada vez que cambian la cama a modo de “fumigar el área”, por otra parte, el predio C ocupa el sistema de “camas calientes” que es básicamente sacar un poco de la cama sucia y el resto de la cama se mezcla con paja limpia por lo tanto la desinfección es menos constante.

Ante la recopilación específica de unos de los puntos de bioseguridad de los predios sobre la desinfección de los corrales, se estableció que el producto más usado es el DUPLALIM y Pintacal, además, que los terneros positivos correspondían a establecimientos que ocupaban ambos productos, estableciéndose que los predios que ocupaban otros tipos de productos a lo anteriormente mencionados no poseían terneros positivos. Ordenándose de la siguiente manera:

Tabla 11. Relación del producto desinfectante con la positividad ante *Cryptosporidium spp.*

Predios	Nivel de higiene	Terneros positivos	Producto desinfectante usado
A	Medio	1	DUPLALIM/ Pintacal
B	Alto	0	Hidróxido de calcio
C	Alto	0	DRYQUAT
D	Medio	0	DUPLALIM
E	Alto	3	DUPLALIM/Pintacal
F	Bajo	8	DUPLALIM

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Relación de positividad según el sexo de los terneros en estudio

En las terneras, solo el 16,98% (n=9) de estas resultaron positivas y el 83,02% (n=44) dio negativo para las pruebas del total de 53 hembras muestreadas.

Por otro lado, los terneros muestreados solo el 7,69% salió positivo (n=3) y el 92,30% dio negativo del total de 39 terneros.

Dentro de los análisis efectuados, hubo 53 terneras muestreadas que representan el 57,6% a diferencia de los 39 terneros muestreados que representan 42,4% del total del número muestral (Tabla 12).

Tabla 12. Tabla de contingencia respecto la relación del sexo y su resultado positivo o negativo de los análisis efectuados.

	Hembras	Machos	Total
Positivos	9	3	12
Negativos	42	36	78
Total	53	39	92

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Según las pruebas de Chi-cuadrado, teniendo en cuenta que p-valor debe ser $<0,05$ para que un resultado sea estadísticamente correcto, en esta ocasión existe significancia en los resultados ante la relación de contraer *Cryptosporidium spp.* y ser hembra (Tabla 13).

Tabla 13. Prueba de Chi-cuadrado para evaluar relación del sexo con el resultado de los análisis efectuados.

Valores esperados	Hembras	Machos	Total
Positivos	5,18	1,27	12
Negativos	24,20	15,26	78
Total	53	39	92

Fuente: Elaboración propia, 2025.

iii) Relación de nivel de higiene con personal específico en las terneras.

Al momento de iniciar la entrevista se recolectaron antecedentes enfocados sobre si existe un encargado en las terneras, lo cual es un factor en que podría incidir en el tema de bioseguridad debido a que es la principal persona que está en contacto con los terneros, por lo tanto, esta variable afecta directamente a la higiene del lugar, y principalmente a la salud y bienestar de los terneros en los predios en estudio.

Adicionalmente, se clasificó en una tabla los predios que poseen un encargado en terneras y el nivel de higiene de los predios. Esto estableció que el 50% de ellos, es decir, 3/6 predios poseían personal específico para esta función y el otro 50% (3/6 predios) no tienen personal exclusivo de terneras (Tabla 14).

Tabla 14. Comparación de nivel de higiene en los predios con un encargado en terneras

Predios	Nivel de higiene	Encargado de terneras
A	Medio	No hay uno definido, tienen manejos. ¹
B	Alto	No hay uno definido. ²
C	Alto	Presenta, médicos veterinarios. ³
D	Medio	Presenta, problemas de manejo. ⁴
E	Alto	Presenta, tiene manejos. ⁵
F	Bajo	No hay uno definido, escasos manejos. ⁶

Fuente: Elaboración propia, 2025.

¹: El administrador hace rondas para supervisar la higiene ambiental.

²: Poseen certificación de bienestar animal, administrador se encarga de supervisar higiene ambiental.

³: Luego de tres meses se van desparasitando los terneros, es un protocolo estándar. Todos los manejos son supervisados por médicos veterinarios.

⁴: Tienen problemas con el encargado de las terneras, debido a que su organización de alimentación en terneros donde pasan todas las tardes sin ningún otro manejo.

^{5 y 6}: Estos predios tienen evaluaciones constantes de médicos veterinario enfocado en salud animal.

No obstante, su importancia radica en tema de que el protocolo de “Protocolo de bienestar animal para el sector lácteo: Ternero y Terneras de Lechería”, menciona dentro de sus recomendaciones tener personal a cargo de las terneras para supervisar un ambiente adecuado e higiénico para el bienestar de los terneros (Tabla 15).

Tabla 15. Relación entre puntos críticos para el resguardo de un nivel alto de Bioseguridad en predios.

Predios	Nivel de higiene	Terneros positivos	Encargado de terneras
A	Medio	1	No hay uno definido, tienen manejos.
B	Alto	0	No hay uno definido.
C	Alto	0	Presenta, médicos veterinarios.
D	Medio	0	Presenta, problemas de manejo.
E	Alto	3	Presenta, tiene manejos.
F	Bajo	8	No hay uno definido, escasos manejos.

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Un punto de bioseguridad alto es tener un encargado en las terneras y fiscalizaciones constantes por parte de personal capacitado, para la prevención de *Cryptosporidium spp.* en los rebaños. Considerando en particular la patogenia de este parásito por el cual se requiere de mayor rigurosidad ante los manejos en las terneras para su prevención. Esto se expresa en los resultados obtenidos donde la tendencia de positividad se da en predios donde no existe personal definido y capacitado en el área (Predio F), a diferencia de los predios donde presentaban personal capacitado y específico en las terneras (Predio C y D), los cuales no presentaron terneros positivos. Las excepciones a esta tendencia pudiesen ser por actividades compensatorias preventivas que tienen estos predios.

iv) Relación entre sistemas de crianza estabuladas y al aire libre, con la positividad.

Otro punto que hay que destacar es que, si bien el PABCO no menciona nada específico sobre sistemas de estabulación y/o sistema de pastoreo al aire libre en terneros, sin embargo, el “Protocolo de bienestar animal para el sector lácteo: Ternero y Terneras de Lechería” menciona protocolos claros sobre esto enfocados en cuándo y cómo albergar terneros en estos sistemas basados en sistemas de higiene.

Para efectos de este estudio, abarca otro punto de vista sobre protocolos de bioseguridad enfocados en terneros lo cual indicaría un punto crítico de diseminación de enfermedades en el rebaño ante la utilización de sistemas estabulados, pero esto favorece su salud ante la utilización de este sistema en el periodo de invierno. Esto indicó que los casos positivos tanto en terneras como en terneros están bajo sistemas de pastoreo al aire libre completas o semicompletas, según la realidad de cada predio. Si nos enfocamos en el nivel de higiene con los sistemas de crianza con el número de positivos podemos determinar lo que se visualiza en la tabla 16.

Tabla 16. Distribución de sistemas de crianza según nivel de higiene en los predios.

Predios	Nivel de higiene	Terneros en sistema de estabulación	Terneros en sistema al aire libre	Terneros positivos
A	Medio	17	3	1
B	Alto	15	5	0
C	Alto	10	0	0
D	Medio	20	0	0
E	Alto	10	0	3
F	Bajo	10	0	8

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Se ve una relación entre un nivel bajo de higiene, un sistema de crianza estabulada con un alto número de positivos que, con respecto a tener nivel de higiene alto, sistema de estabulación y no tener casos positivos.

v) Relación entre el tipo de alimento que se ofrece a los terneros y sus resultados positivos a *Cryptosporidium spp.*

Dentro de las entrevistas efectuadas, se obtuvieron otros tipos de datos respecto a la alimentación de los terneros de cada predio. Se establece en el protocolo unas recomendaciones sobre la alimentación adecuada para proteger la salud en terneros. Este punto más que nada es para demostrar que los predios que ocupan diferentes tipos de alimentación (Tabla 17).

Tabla 17. Recopilación de los alimentos de los terneros en los predios en estudio

Predio	Alimentos que ofrecen a los terneros	Horarios
A	Leche entera más calostro (leche de descarte) ¹ ; concentrado inicial y crecimiento; heno; pradera según corresponda	07:00hrs y 19:00hrs
B	Leche entera de las mismas vacas; concentrado inicial y de crecimiento; heno; pradera según corresponda.	Después de la ordeña, 2 veces al día
C	Leche de descarte, calostro y/o calostro congelado ² ; concentrado inicial y de crecimiento; heno; según corresponda.	Después de la ordeña, 2 veces al día
D	Leche de descarte y se pasteuriza, se da la leche a 40°C; se agrega sustituto lácteo; mezcla de maíz molido, soya y sales minerales; heno.	04:00hrs y 11:00hrs
E	³ Sustito lácteo y concentrado inicial; destetados se les da heno, avena, concentrado crecimiento; y pradera.	Después de la ordeña, 2 veces al día
F	Leche entera de las mismas vacas y concentrado inicial; Cuando se destetan se les da concentrado de crecimiento, heno y pradera. Avena no se tiene claro si se les ofrece.	Después de la ordeña, 2 veces al día

Fuente: Elaboración propia, 2025.

¹=Cuando hay vacas que dan leche con restos de calostros se mezclan con la leche entera, no se mantienen las mismas concentraciones en cada preparación.

²=Cuando no hay calostro para los terneros recién nacidos se les da calostro congelado.

³= Se les da calostro, luego, pasan cinco días con leche entera, después pasan dos días donde mezclan la leche con sustituto lácteo y finalmente solo sustituto lácteo.

Se puede ver factores de riesgo entre la leche entera y la leche de descarte (toda la leche que sea mezclada con calostro y/u otro producto lácteo) con posible foco de contagio en los terneros por *Cryptosporidium spp.*, debido a que el valor de significancia de chi-cuadrado dio $4,69067E-06 < 0,05$, esto se puede observar en la siguiente tabla 18.

Tabla 18. Resultados de Chi-cuadrado efectuado

	Positivos	Negativos	Total
Leche de descarte	1	51	52
Leche entera/ sustituto	11	29	40
Total	12	79	92

Fuente: Elaboración propia, 2025.

DISCUSIÓN

El presente estudio permitió la identificación de *Cryptosporidium spp.* mediante microscopía óptica directa usando el método de sedimentación y flotación con sulfato de zinc al 33%. La segunda prueba utilizada fue la tinción Ziehl-Neelsen modificada para confirmar especies identificadas y complementar. Es crucial reconocer que, si bien estos métodos son accesibles y ampliamente usados, presentan limitaciones que influyen en la interpretación de resultados, dado que mediante microscopía es bastante difícil diferenciar especies de *Cryptosporidium spp.*, por ende, se suele usar métodos más avanzados como los métodos moleculares. Estos métodos moleculares son costosos, se requieren equipamiento y personal especializado, situación que no está presente en los predios del sur de Chile.

El estudio estableció que de las 92 muestras disponibles solo 12 de estas resultaron positivas a *Cryptosporidium spp.*, representando el 13,04% de prevalencia. Este resultado se explica por dos razones, una de ellas porque los predios presentaban niveles medios de bioseguridad lo cual indica que existen factores protectores asociados a la presencia de bioseguridad frente a este parásito. Esto se estableció mediante evaluaciones en el terreno según las condiciones de crianza de cada predio, haciendo mayor énfasis en los puntos críticos que influyen directamente en su salud fisiológica y bienestar animal. Lo cual es mencionado por varios autores que son temas fundamentales en la crianza en terneros para prevenir un sinnúmero de enfermedades tanto de origen parasitario como de origen bacteriano o viral, en el cual solo existe una diferencia al tipo de escala utilizada al evaluar cada punto (Barry et al., 2019; Barnhardt y Raabis, 2025).

La prevalencia fue de 13,04% con un promedio de nivel de higiene medio entre los predios en estudio, por lo tanto, se puede establecer que el nivel de higiene en los predios sí influye en la presencia o ausencia de este parásito, dado que la prevalencia fue menor a la planteada a nivel nacional de 56,1%, aunque no era un número preciso daba una estimación (Chen et al., 2023). Si analizamos esto desde una perspectiva mundial se establece que la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* se sitúa entre el 27,0% y el 37,5%

en terneros y ganado predestetado, teniendo en cuenta que solo se habla del parásito y no de las medidas de bioseguridad (Buchanan et al., 2025).

Es fundamental considerar que las pruebas diagnósticas utilizadas en el presente estudio poseen una sensibilidad diferente a los métodos de diagnósticos moleculares, siendo que, para visualización por microscopía directa se requiere una alta carga parasitaria para detectar ooquistes, y en consecuencia arrojar falsos negativos incluso si el animal está infectado. Por el contrario, las pruebas moleculares pueden detectar las infecciones parasitarias incluso en una baja carga, lo cual resulta beneficioso a la hora de pesquisar esto (Rideout et al., 2024).

Se logró identificar en tres de las doce muestras analizadas, dos especies que presumiblemente son *Cryptosporidium parvum* o *Cryptosporidium bovis*, debido a que su tamaño de radio correspondía al rango establecido para esas especies. No se logró identificar la qué especies correspondieron las otras nueve muestras, debido a lo inespecífico que fueron sus marcadores que permitían clasificarlas.

Las muestras que no resultaron ser positivas a *Cryptosporidium spp.*, igualmente se analizaron y se identificaron a nivel de género de los especímenes que se observaron. Otro punto que se debe resaltar, son los hallazgos encontrados en las muestras sobre otros tipos de parásitos identificados como: *Eimeria spp*, huevo de nemátodo, huevos de *Moniezia spp* y un ácaro oribátido.

Esto se evidenció en varias muestras que poseían tres tipos de parásitos simultáneamente (exceptuando el hallazgo de la muestra con huevo de nematodo y la muestra del ácaro oribátido); Según algunos estudios recientes, se señala que algunos individuos independientes de la especie pueden presentar infestaciones de más de un parásito a la vez, así que no es un hallazgo extraño en un coproparasitario, más bien, confirma este punto en sí (Nosal et al., 2025; Pereira et al., 2024). Sin embargo, comprendiendo que el cuadro clínico que genera en el huésped condiciona a un estado

inmunitario deficiente comprometiendo su capacidad de controlar las infecciones de manera efectiva.

En consecuencia, el sistema inmunológico en estos terneros se encuentra aún más debilitado y expuestos a otros patógenos, agravando el cuadro clínico general y comprometiendo su bienestar (Delling y Dauschies, 2022). Esto reafirma la necesidad de generar protocolos de bioseguridad eficiente para proteger el bienestar de los terneros, lo cual se profundiza en este estudio.

Cabe señalar que no todas las muestras lograron identificarse los especímenes presentes en ellas, en este sentido resaltan cuatro muestras en particular. En estas muestras se observaron especímenes que no se lograron identificar, por esta razón, se deja presente el hallazgo en el estudio como una incógnita.

Por otra parte, si nos enfocamos en los resultados positivos y negativos, especímenes identificados y los que no se logró efectuar esto, en las muestras analizadas. Existen múltiples variables que se pueden abordar al respecto de los valores obtenidos. En esta ocasión, se examinaron dos causas puntuales que se consideran más importantes en este caso las cuales son: Falta de experiencia del operador y confiabilidad de los análisis coproparasitarios realizados en este estudio.

Con respecto a las evaluaciones efectuadas en los predios para poder establecer una relación entre las medidas de bioseguridad y la prevalencia de este parásito, se determinó que existe una relación con la positividad de la prueba y su nivel de bioseguridad, como otras variables que están correlacionadas con esta positividad. En este sentido, al examinar los terneros positivos con el nivel de higiene de los predios, la más alta cantidad de casos se dieron en el predio F que tenía bajo nivel de higiene, porque poseía varios puntos de la evaluación de higiene que no cumplían con los estándares de bioseguridad lo que se evidencia en que 8 de los 10 terneros muestreados dieron positivos para *Cryptosporidium spp.*, dando indicios que esta relación hace la diferencia entre el número de casos y el nivel de higiene, los otros casos positivos se dieron en predios con nivel

medio de higiene el cual habían menos puntos de la evaluación que no cumplían pero aún así era menos.

En el predio A solo evidenció un solo caso de este parásito y el predio E solo presentó tres casos positivos. Los predios B, C y D no presentaron casos positivos de *Cryptosporidium spp.*, y sus niveles de higiene en promedio fueron altos, dando sustento al fundamento de que a mayor nivel de higiene menor o inexistente número de casos.

En lo que respecta sobre otras variables que intervienen en la positividad de los análisis, se sitúa el uso del PABCO como medida cautelar de higiene en los predios. Entendiendo que no todos los predios en estudio poseen PABCO, se observó que la positividad a *Cryptosporidium spp.* se dio en estos predios y se evaluaron con Chi-cuadrado para ver el nivel de significancia de esto, sobre la existencia de una asociación entre la positividad de los análisis efectuados y con el programa PABCO.

Esta observación, aunque contraintuitiva a primera vista, establece una limitación fundamental del PABCO en contexto de control parasitario. Comprendiendo que es un programa de asesorías de manejo del ganado enfocado en la inocuidad alimentaria, por lo que abarca solo un sector de preventivo en específico en los predios sobre riesgos asociados a la producción de alimentos, como contaminación bacteriana. Sin embargo, para prevención de enfermedades como lo es la criptosporidiosis exige un abordaje más amplio por sus características patogénicas. Los ooquistes de este parásito son resistentes a varios desinfectantes comunes y sobreviven mucho tiempo en el ambiente (Barnhardt y Raabis, 2025).

Por este motivo, guiarse solamente de las pautas para prevenir ciertas enfermedades parasitarias como lo es el *Cryptosporidium spp.*, no son suficientes y se requiere de manejos en alimentación, infraestructuras y salud animal para generar un plan completo preventivo con protocolos establecidos y comprobados por experto en salud animal (Sánchez, 2023; Siama et al., 2025; Wilson, 2025;). Tal vez, sus protocolos no son

específicos para ciertos criterios preventivos como en este caso para la eliminación de ooquistes *Cryptosporidium spp.* ambientales.

Dada la información recopilada dentro de estudio se demuestra que el PABCO por sí solo no es un factor protector contra el *Cryptosporidium spp.*, dando a entender que los predios con este programa debiesen tener una menor prevalencia, pero según la información del presente estudio este no presenta tal asociación.

Por otra parte, otro factor que interviene dentro de medidas de bioseguridad y la positividad, resalta las sanitizaciones efectuadas en los corrales de terneros y la sala de parto con productos adecuados para la eliminación y prevención de patógenos en el ambiente. Dentro de los productos recopilados en las entrevistas se obtuvo que algunos ocupaban DUPLALIM el cual es un desinfectante concentrado a base de amonios cuaternarios y glutaraldehído, DRYQUAT que es un desinfectante basado en amonio cuaternario, Pintacal que es un producto usado en construcciones debido a su efecto fungicida y biocida o Hidróxido de calcio es usado en camas por acción bactericida. Ahora bien, teniendo en cuenta estos antecedentes los productos que son eficientes contra la erradicación y eliminación de este parásito son todos los productos que contengan amonio cuaternario, de los que se han mencionado el DUPLALIM y DRYQUAT entran en esta categoría (Van Mol et al., 2022). No obstante, se debe dejar en claro que el contener amonio cuaternario el producto de limpieza no es sinónimo de eficacia total contra *Cryptosporidium spp.* si no se utiliza adecuadamente.

Por otro lado, si nos centramos más en el individuo de estudio sobre otras posibles variables que incidan directamente con la positividad. Podemos visualizar que existe una tendencia entre el sexo del animal y los casos positivos de *Cryptosporidium spp.*

La relación entre los casos positivos respecto a su sexo se puede establecer, que en este caso existieron 9 hembras y 3 machos positivos para *Cryptosporidium spp.*, estableciéndose así que puede existir un mayor riesgo de parasitosis con este agente en hembras. A simple vista la proporción de terneras y terneros no fueron lo más adecuado para poder determinar este punto, debido a que en este estudio en total existían 39

terneros (42,39% del rebaño) y 54 terneras (58,70% del rebaño). No obstante, al evaluarlo con la prueba de Chi- cuadrado, esta prueba determinó una asociación significativa entre el ser hembra y estar expuesta a contraer este parásito. Esta asociación existe, pero se relacionaría más que nada a la proporción del rebaño que por factores de riesgo mayores en las hembras. Varios autores confirman que no hay una diferencia significativamente mayor entre los sexos de los terneros y la exposición a este parásito (Ayele et al., 2018; Baazizi et al., 2025; Romero Salas et al., 2024). Por lo tanto, no se puede considerar que existe un mayor peligro de contraer este parásito en terneras que en terneros debido a que existe una disparidad en la cantidad de hembras y machos, en este estudio al menos.

En lo que respecta sobre otras variantes que intervengan con la positividad, se encontró una relación entre los predios con presencia de personal específico en el cuidado de las terneras y con el nivel de higiene. Los predios C y D que salieron negativos al análisis y que, su nivel de higiene es alto y presentan personal específico a la función, en cambio, el predio B salió negativo a los análisis, su nivel de higiene es alto y no posee personal definido a esto.

Esto establece que mientras se tenga niveles alto de higiene y personal para las terneras se vería como un factor protector de prevención de este parásito, aunque el predio B deshace este patrón, la tendencia general (predios C y D con el personal y alta higiene, vs. A y F sin personal exclusivo y menor higiene) sigue siendo un punto válido, dado que existe evidencia que plantea este factor protector que se correlaciona con buena práctica de higiene. Este predio, podría ser una excepción o se correlaciona más con el resto de sus prácticas de manejos que compensan este factor en cuestión (Roblin et al., 2023).

Existe una variable que condice lo que se ha planteado, aún así, existe una explicación al respecto. El predio E presenta tres casos positivos en los análisis efectuados, tiene nivel de higiene alto y tiene personal a cargo en las terneras, lo cual contradice arbitrariamente lo anterior, sin embargo, cabe resaltar que ellos ocupan sustituto lácteo

para alimentar estos terneros y si se tienen mala práctica a la hora de preparar este alimento puede existir contaminación cruzada que conllevaría a que se transmitan agentes patógenos a los terneros al consumir el sustituto lácteo (Heinemann et al., 2021; Roblin et al., 2023).

Otro factor que interviene con la positividad de *Cryptosporidium spp.* en los rebaños, son los sistemas de crianza en los terneros si son de estabulación o al aire libre. Esto se relaciona debido a que según algunos autores describen que, al estar en un ambiente bien ventilado, con temperatura adecuada sin estar expuestos a condiciones climáticas inadecuadas, alejados de la sala de parto y contacto de las ubres de sus madres; Se observó un posible factor protector en enfermedades diarreicas neonatales en los terneros, siendo así, que inclusive la aparición de *Cryptosporidium spp.* se viese disminuido o erradicado su presencia. (Barrington et al., 2002; Barnhardt y Raabis, 2025; Maunsell y Donovan, 2008).

En este estudio se expone mediante los resultados que existe una mayor positividad en los terneros bajo sistemas estabulados que aquellos que se sitúan al aire libre, sin embargo, no se considera significativo debido que solo hay 8 terneros al aire libre en los predios y todos los demás están bajo estabulación, por lo tanto, no se puede establecer que el sistema de estabulación es un factor de riesgo para contraer *Cryptosporidium spp.* sino más bien que el nivel de higiene del lugar y la utilización adecuada de este sistema tienen que ver más con esto. Dicho de otra forma, los sistemas de crianza bajo estabulación proveen de factores protectores que previene enfermedades diarreicas neonatales, aunque, si no son utilizadas de manera adecuada solo genera puntos críticos de contaminación y posibles infecciones dentro del rebaño, por lo tanto, se requiere de protocolos de higiene y manejo adecuados en sistemas de estabulación para su óptima utilización en los rebaños de los terneros.

Por otro lado, hay otra variable que se debe tener en consideración a la hora de evaluar positividad en los rebaños. El tipo de alimento y el origen de sus materias primas, porque

son factores que pudiese indicar un punto crítico de bioseguridad siendo las mezclas o preparaciones de la leche en condiciones inadecuadas de higiene respecto al almacenamiento, elaboración, utensilios ocupados, materia prima, entre otros. Dado que este parásito se disemina en el ambiente por cuerpos de agua y fómites principalmente, estos alimentos pudiesen estar contaminados (Mo et al., 2024).

Al ver asociaciones posibles puntos críticos de diseminación de este parásito, se evidencia una relación particular entre los predios C y D que les dan leche de descarte (leche con calostro) y no presentaron ningún ternero positivo a *Cryptosporidium spp.*, al mismo tiempo, el predio B les ofrecen leche entera a sus terneros y todos sus análisis fueron negativos.

En cambio, El predio A ofrecen leche de descarte (leche con calostro) a sus terneros, y este predio tuvo un ternero positivo a este parásito. Adicionalmente, el Predio E tuvo 3 terneros positivos y su alimentación se basa en sustituto lácteo; también se visualiza que el Predio F tuvieron 8 terneros positivos y su alimentación es en base de leche entera de las vacas. Respecto a otros alimentos utilizados solo difieren en que los predios E y F les ofrecen avena a los terneros destetados, aunque en predio F no está del todo claro.

En otras palabras, pudiese ver una relación entre ofrecer leche de descarte y leche entera (leche de las mismas vacas o sustituto lácteo) con la positividad en estos rebaños, para ello, se analizó mediante chi-cuadrado lo cual arrojó que si existía una asociación entre ofrecer uno de estos alimentos lácteos en los terneros y la posibilidad de contraer *Cryptosporidium spp.* Esto se interpreta en que la leche mezclada con calostro tiene altos porcentajes de grasa, proteínas, vitaminas y minerales lo cual posee mayor valor nutritivo que la leche entera lo que favorece a su crecimiento, ganancia de peso y previene las diarreas neonatales causadas por ciertos patógenos (Kargar et al., 2020; McCarthy et al., 2024). Por lo tanto, el tipo de alimento ofrecido a los terneros tiene una gran implicación para la prevención de enfermedades y su crecimiento, siendo así un factor protector.

CONCLUSIÓN

El presente estudio, realizado en seis predios de Los Muermos con un muestreo de 92 terneros, reveló una prevalencia de 13,04% de *Cryptosporidium spp.* Se evaluó mediante análisis de microscopía directa por medio de sedimentación y flotación con sulfato de zinc 33%, posterior a esto, las muestras sospechosas se pasaron por tinción Ziehl-Neelsen para la identificación de las especies. La tinción Ziehl-Neelsen se aplicó solo a muestras sospechosas para confirmar la presencia de ooquistes compatibles, sin modificar el resultado final de prevalencia obtenido por la técnica de flotación

Los resultados obtenidos entre los predios en estudio establecen que el nivel de higiene es un factor crucial para la prevención de *Cryptosporidium spp.*, ya que, los predios (B; C y D) con niveles medios a altos de higiene no presentaron casos positivos a este parásito, en cambio, el predio con nivel bajo de higiene (Predio F) presentó 8/10 terneros positivos a *Cryptosporidium spp.* No obstante, se debe dejar en claro que estos resultados poseen cierta baja sensibilidad debido al método de diagnóstico efectuado, el cual puede arrojar falsos negativos por baja carga parasitaria, además, no es posible diferenciar especies de *Cryptosporidium spp.* específicas; solo se pueden estimar, aún así, se requieren de métodos moleculares de diagnóstico. Otro factor: Las observaciones microscópicas fueron realizadas por un operador en proceso de entrenamiento y bajo la supervisión de un profesional con experiencia. No obstante, la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* puede verse influenciada por la curva de aprendizaje propia de estas técnicas, especialmente en muestras con baja carga parasitaria.

El programa PABCO es eficiente en determinar puntos críticos para la inocuidad alimentaria dando asesorías especializadas en esa área, sin embargo, utilizar esto como único medio de prevención de patógenos en los predios no es suficiente por sí solo debido a que no posee protocolos específicos (como en este caso) contra *Cryptosporidium spp.* en su plan de manejo predial, por lo tanto, no es un factor protector directo para criptosporidiosis. Esto resalta la necesidad de protocolos adecuados para implementar en los predios enfocados en áreas como alimentación (evitar contaminación cruzada, alimentos contaminados, etc.), infraestructura adecuada (superficies lavables y

amigables con terneros, ventilados, secos, etc.) y salud animal (personal capacitado en esta área). Para otorgar un protocolo de manejo lo más adecuado para los productores y mejorar el cuidado de la salud neonatal en terneras, proyectándose a evitar posibles coinfecciones o cuadros clínicos agravados.

Este estudio evidenció que, en los sistemas de estabulación, si no son utilizados de manera adecuada pueden ser un factor fundamental para desencadenar focos de contagios de agentes patógenos en los rebaños. Del mismo modo existen otros puntos críticos de la bioseguridad, basados en las formas de alimentación y sus posibles malas prácticas de higiene en su preparación.

En resumen, los niveles de higiene influyen directamente en la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* en los rebaños, sabiendo la complejidad del control del parásito se requieren protocolos más allá de lo enfocado sobre inocuidad alimentaria y que sean específicos para su prevención en los predios, apoyado de un panel de expertos sobre el tema. Todo con el fin de promover su prevención y mejorar el bienestar en los terneros.

REFERENCIAS

- Abdou, N.-E. M. I., AlAzemi, M. S., Al-Sayegh, M. T., Y Majeed, Q. A. H. (2022). Performance of diagnostic assays used to detect *Cryptosporidium* oocysts in faecal samples of cattle in Kuwait and genotyping of *Cryptosporidium* species. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 336. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03435-w>
- Alegbeleye, O. O., Y Sant'Ana, A. S. (2020). Manure-borne pathogens as an important source of water contamination: An update on the dynamics of pathogen survival/transport as well as practical risk mitigation strategies. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 227, 113524. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113524>
- Almeida-Caicedo, M. G., Almeida Secaira, R. I., Nuñez Torres, O. P., Y Borja-Caicedo, B. E. (2023). *Moniezia expansa* y *Moniezia benedeni* una parasitosis en rumiantes: una visión general de sus aspectos vinculados a su taxonomía. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(2), 130-138. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2023.100200130>
- Aydogdu, U., Isik, N., Ekici, O. D., Yildiz, R., Sen, I., Y Coskun, A. (2018). Comparison of the effectiveness of halofuginone lactate and paromomycin in the treatment of calves naturally infected with *cryptosporidium parvum*. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46. Scopus. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.88162>
- Ayele, A., Seyoum, Z., Y Leta, S. (2018). *Cryptosporidium* infection in bovine calves: prevalence and potential risk factors in northwest Ethiopia. *BMC Research Notes*, 11(1), 105. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3219-7>

Baazizi, R., Taibi, M., Senouci, N., Baroudi, D., Khodja, S., Belala, R., Khelef, D. y Mimoune, N. (2025). Prevalencia y factores de riesgo de *Cryptosporidium* spp. e infestación por *Giardia* en bovinos y pollos de engorde en Argelia. *Veterinárni medicína*, 70 (2), 68-76. doi: 10.17221/82/2024-VETMED

Baptista, R. P., Cooper, G. W., Y Kissinger, J. C.(2021). Challenges for *Cryptosporidium* Population Studies. *Genes*, 12(6), 894. <https://doi.org/10.3390/genes12060894>

Barnhardt, T. R., Y Raabis, S. M. (2025). Biosecurity strategies for optimization of calf health in north American beef and dairy operations. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 41(1), 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2024.11.004>

Barrington, G. M., Gay, J. M., Y Evermann, J. F. (2002). Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 18(1), 7-34. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(02\)00005-1](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(02)00005-1)

Barry J, Kennedy E, Sayers R, de Boer I, Bokkers E. Desarrollo de un protocolo de evaluación del bienestar para terneros lecheros desde el nacimiento hasta el destete. *Bienestar Animal*. 2019;28(3):331-344. doi:10.7120/09627286.28.3.331

Benavides Ortiz, E. (2013). Técnicas para el diagnóstico de endoparásitos de importancia veterinaria: Vol. Primera edición. Ediciones Unisalle.

Bernal Redondo R, Y Becerril Flores M.A. (2023). Cryptosporidiosis. Becerril Flores M.A.(Ed.), Parazitología Médica, 6e. McGraw Hill Education.

<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3370§ionid=279395339>

Berra, Y., Graciano, L., Bravo, J., Orozco, M., Y Marcela Marcos, E. (n.d.). Estudios epidemiológicos en la interfase humano - animal - ecosistema: Factores relacionados al riesgo de infección de patógenos zoonóticos; Universidad de Buenos Aires. InVet, 2, 12-2021. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/216663>

Bienestar animal: Un bien vital para un mundo más sostenible. (s. f.). OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal. Recuperado 25 de noviembre de 2024, de <https://www.woah.org/es/documento/bienestar-animal-un-bien-vital-para-un-mundo-mas-sostenible/>

Biblioteca del Congreso Nacional. SIIT. (2005a). *Región de los Lagos*. Consultado 10 de octubre de 2024, de <https://www.bcn.cl/siit/nuestropais/region10>

Biblioteca del Congreso Nacional. SIIT. (2005b). *Clima y vegetación*. Consultado 10 de octubre de 2024, de <https://www.bcn.cl/siit/nuestropais/clima.htm>

Bones, A. J., Jossé, L., More, C., Miller, C. N., Michaelis, M., & Tsaousis, A. D. (2019). Past and future trends of Cryptosporidium in vitro research. Experimental parasitology, 196, 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.12.001>

Bourli, P., Eslahi, A. V., Tzoraki, O., Y Karanis, P. (2023). Waterborne transmission of protozoan parasites: a review of worldwide outbreaks – an update 2017- 2022.

Journal of Water and Health, 21(10), 1421-1447.
<https://doi.org/10.2166/wh.2023.094>

Bulla-Castañeda, D. M., Lancheros Buitrago, D. J., Castañeda Sedano, L. B., Higuera Piedrahita, R. I., Y Pulido-Medellin, M. O. (2024). Prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de leche de Chiquinquirá (Colombia). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 310-322.
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i2.6448>

Class, C. S. C., Fialho, P. A., Alves, L. C., Silveira, R. L., Amendoeira, M. R. R., Knackfuss, F. B., Y Barbosa, A. da S. (2023). Comparison of McMaster and Mini-FLOTAC techniques for the diagnosis of internal parasites in pigs. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32, e013322. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023013>.

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). (2024). *Epi Info 7* [software]. Disponible en <https://www.cdc.gov/epiinfo>

Chen, Y., Huang, J., Qin, H., Wang, L., Li, J., Y Zhang, L. (2023). Prevalencia del genotipo de *Cryptosporidium parvum* y gp60 en terneros lecheros en todo el mundo: Una revisión sistemática y un metanálisis. *Acta Tropica*, 240, 106843.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2023.106843>

El Sector Lácteo, P. (n.d.-a). Protocolo de Bienestar Animal. Consorcio lechero.CI. Retrieved November 28, 2024, from https://www.consorciolechero.cl/wp-content/uploads/2021/10/1-protocolo_completo_final.pdf

El-Deeb, W., Iacob, O., Fayez, M., Elsohaby, I., Alhaider, A., Mkrtchyan, H. V., Ibrahim, A., Y Alhumam, N. (2022). Assessment of the Immune Response of Clinically

- Infected Calves to *Cryptosporidium parvum* Infection. *Agriculture*, 12(8), Article 8.
<https://doi.org/10.3390/agriculture12081151>
- Exporlac, (2023). Indicadores sector lácteo chileno 2023 - Exporlac. Recuperado 10 de octubre de 2024, de <https://exporlac.cl/2024/09/09/indicadores-sector-lacteo-chileno-2023/>
- Field, A. (2024). *Discovering statistics using IBM SPSS statistics* (6th ed.). SAGE Publications.
- Fradette, M. S., Culley, A. I., Y Charette, S. J. (2022). Detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in Environmental Water Samples: A Journey into the Past and New Perspectives. *Microorganisms*, 10(6), 1175.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10061175>
- Fuentes Ferrer, M. E., Y Prado González, N. del. (2013). Medidas de frecuencia y de asociación en epidemiología clínica. *Anales de Pediatría Continuada*, 11(6), 346-349. [https://doi.org/10.1016/S1696-2818\(13\)70157-4](https://doi.org/10.1016/S1696-2818(13)70157-4)
- Función ALEATORIO.ENTRE - Soporte técnico de Microsoft. (2024). Recuperado 20 de enero de 2025, de <https://support.microsoft.com/es-es/office/funci%C3%B3n-aleatorio-entre-4cc7f0d1-87dc-4eb7-987f-a469ab381685>
- Gao, H., Liang, G., Su, N., Li, Q., Wang, D., Wang, J., Zhao, L., Kang, X., Y Guo, K. (2023). Prevalence and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bienersi* in Diarrheic and Non-Diarrheic Calves from Ningxia, Northwestern China. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13(12), 1983. <https://doi.org/10.3390/ani13121983>

Gattan, H. S., Alshammari, A., Marzok, M., Salem, M., AL-Jabr, O. A., Y Selim, A. (2023). Prevalence of Cryptosporidium infection and associated risk factors in calves in Egypt. *Scientific Reports*, 13(1), 17755. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44434-7>

Google, (s.f). [Mapa de Chile, Los Muermos en Google maps]. Recuperado el 10 de octubre, 2024, de <https://acortar.link/pP2EGD>

González Meléndez, R. C., Elizalde Cuevas, B., Cortés Cruz, M. E., Y Orduña Sánchez, M. (2020). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología: Un enfoque gráfico. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. ISBN: 978-607-30-3771-6.

González Ulibarry, P. (2020). Producción de ganado: Bovino, ovino y caprino. -Asesorías Parlamentarias BCN. Búsqueda por Categoría Temática. http://www.bcn.cl/asesoratecnicaparlamentaria/detalle_documento.html?id=81344

Gráficas regionales. (2021). Default. Recuperado 27 de noviembre de 2024, de <http://www.ine.gob.cl/censoagropecuario/resultados-finales/graficas-regionales>

Hassan, E. M., Örmeci, B., DeRosa, M. C., Dixon, B. R., Sattar, S. A., Y Iqbal, A. (2021). A review of Cryptosporidium spp. and their detection in water. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 83(1), 1-25. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.515>

Helmy, Y. A., Y Hafez, H. M. (2022). Cryptosporidiosis: From prevention to treatment, a narrative review. *Microorganisms*, 10(12), 2456. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122456>

Heinemann, C., Leubner, C. D., Hayer, J. J., Y Steinhoff-Wagner, J. (2021). Hygiene management in newborn individually housed dairy calves focusing on housing and feeding practices. *Journal of animal science*, 99(1), skaa391.

<https://doi.org/10.1093/jas/skaa391>

Holsback, L., Marquez, E. de S., Silva, M. A. da, Porto, P. P., Garcia, J. L., Martins, F. D. C., Y Seixas, M. de. (2023). Molecular characterization of *Cryptosporidium* in ruminants and observation of natural infection by *Cryptosporidium andersoni* in sheep from Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria [Brazilian Journal of Veterinary Parasitology]*, 32(4), e010023.

<https://doi.org/10.1590/S1984-29612023076>

Inês, E. de J., Figueiredo Pacheco, F. T., Carneiro Pinto, M., Silva de Almeida Mendes, P., da Costa-Ribeiro, H., Matos Soares, N., AquinoTeixeira, M. C., Inês, E. de J., Figueiredo Pacheco, F. T., Carneiro Pinto, M., Silva de Almeida Mendes, P., da Costa-Ribeiro, H., Matos Soares, N., Y AquinoTeixeira, M. C. (2016). Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites. *Biomédica*, 36(4), 519-524.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2799>

Indicadores de Nivel de Salud: Cálculo e Interpretación – Síntesis de Conocimientos. (2016, julio 18). <https://sintesis.med.uchile.cl/condiciones-clinicas/salud-publica/salud-publica-situaciones-clinicas/12736-indicadores-de-nivel-de-salud-calculo-e-interpretacion>

Instituto de Salud Pública de Chile. (2021). Guía de bioseguridad para laboratorios clínicos. Recuperado de

<https://www.ispch.gob.cl/sites/default/files/GU%C3%8DA%20DE%20BIOSEGURIDAD%20PARA%20LABORATORIOS%20CL%C3%8DNICOS.pdf>

Instituto Nacional de Salud (INS). (2003). *Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de parásitos intestinales*. Recuperado de [https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/165_NT37.pdf](https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/165_NT37.pdf)

Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Carroll, K. C., Funke, G., Richter, S. S., Landry, M. L., Y Warnock, D. W. (Eds.). (2015). Manual of clinical microbiology (11th ed.). American Society for Microbiology Press.

Kargar, S., Roshan, M., Ghoreishi, S. M., Akhlaghi, A., Kanani, M., Abedi Shams-Abadi, A. R., & Ghaffari, M. H. (2020). Extended colostrum feeding for 2 weeks improves growth performance and reduces the susceptibility to diarrhea and pneumonia in neonatal Holstein dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 8130-8142. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18355>

Khalil, I. A., Troeger, C., Rao, P. C., Blacker, B. F., Brown, A., Brewer, T. G., Colombara, D. V., Hostos, E. L. D., Engmann, C., Guerrant, R. L., Haque, R., Houpt, E. R., Kang, G., Korpe, P. S., Kotloff, K. L., Lima, A. A. M., Petri, W. A., Platts-Mills, J. A., Shoultz, D. A., Mokdad, A. H. (2018). Morbidity, mortality, and long-term consequences associated with diarrhoea from *Cryptosporidium* infection in children younger than 5 years: A meta-analyses study. *The Lancet Global Health*, 6(7), e758-e768. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30283-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30283-3)

Lacsi, F., Y Joaquín, E. (2023). *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. y *Cystoisospora* spp. (protozoa: apicomplexa) en niños y animales domésticos, en dos áreas periurbanas de la ciudad de Corrientes. <http://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/53977>

- Lombardelli, JA, Tomazic, ML, Schnittger, L. *et al.* Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en terneros lecheros y subtipificación de GP60 en terneros diarreicos en el centro de Argentina. *Parasitol Res* **118**, 2079-2086 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06366->
- López Torres, L. L., López Cuevas, O., Vázquez Vázquez, C., Alvarado Gómez, O. G., Vázquez Alvarado, R. E., Rodríguez Fuentes, H., Chaidez Quiroz, C., Y Vidales Contreras, J. A. (2020). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in dairy livestock from the Laguna region, Mexico. *Revista bio ciencias*, 7, e881. Epub 18 de noviembre de 2020. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e881>
- Manterola, C., Hernández-Leal, M. J., Otzen, T., Espinosa, M. E., Grande, L., Manterola, C., Hernández-Leal, M. J., Otzen, T., Espinosa, M. E., Y Grande, L. (2023). Estudios de Corte Transversal. Un Diseño de Investigación a Considerar en Ciencias Morfológicas. *International Journal of Morphology*, 41(1), 146-155. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022023000100146>
- Martínez-Gordillo M, Rufino-González Y, Y Ponce-Mantecola M (2023). Tinciones y cultivos para el estudio de los parásitos. Becerril Flores M.A.(Ed.), *Parasitología Médica*, 6e. McGraw Hill Education. <https://accessmedicina-mhmedical-com.bdigitaluss.remotexs.co/content.aspx?bookid=3370§ionid=279397067>
- Maunsell, F., & Donovan, G. A. (2008). Biosecurity and risk management for dairy replacements. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 24(1), 155-190. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.007>
- McCarthy, H. R., Cantor, M. C., Lopez, A. J., Pineda, A., Nagorske, M., Renaud, D. L., Y Steele, M. A. (2024). Effects of supplementing colostrum beyond the first day of life on growth and health parameters of preweaning Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 107(5), 3280-3291. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23649>

Meechan PJ, Potts J (2020) Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (BMBL) 6th Edition | CDC Laboratory Portal | CDC. In: U.S. Department of Health and Human Services.

Mo, Z., Quan, J., Xu, B., Yu, H., Li, J., Luo, X., Wuyun, Q., Li, J., Yang, W., & Hu, W. (2024). A one health study on phylogenetics and risk of pathogenic intestinal parasites at a ranch in Inner Mongolia. *One health* (Amsterdam, Netherlands), 19, 100912. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2024.100912>

Moore, D., Notz, W., & Fligner, M. (2021). *The basic practice of statistics* (9th ed.). W. H. Freeman.

MSD Salud Animal. (2020). Halocur: Tratamiento contra criptosporidiosis bovina. [Ficha técnica]. Recuperado el 20 de enero 2025 de <https://www.msd-salud-animal.cl/productos/halocur-tratamiento-bovinos/>

Neira O, Patricia, Muñoz S, Nelson, Wilson L, Gonzalo, Barthel M, M. Elizabeth, Rosales L, María J, Y Henríquez R, Carlos. (2012). Especies de *Cryptosporidium* en pacientes inmunodeficientes e inmunocompetentes de Valparaíso: Estudio descriptivo. *Revista chilena de infectología*, 29(1),63-71.<https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000100011>

Nosal, P., Kowal, J., Basiaga, M., Y Węglarz, A. (2025). Parasitic infections in the organic beef cattle herds of southern Poland during the grazing season, with the first record of *Calicophoron daubneyi* (Dinnik, 1962) in the country. *Journal of veterinary research*, 69(1), 59-69. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2025-0012>

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Fedeleche, Exporlac, Y Consorcio Lechero. (2023). *Indicadores del sector lácteo 2023*. ODEPA.

Organización Mundial de la Salud. (2020). Zoonosis. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>

Painean-Peña, J. S., Raffo-Carvajal, E., Mercado, R., Peña-Frías, S., Y Muñoz, P. D.P. (2021). Detección y caracterización molecular de *Cryptosporidium* spp. En terneros de lechería de la provincia de Valdivia, Chile. *Revista MVZ Córdoba*, 27(1), e2197. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2197>

Pereira, M. A., Vila-Viçosa, M. J., Coelho, C., Santos, C., Esteves, F., Cruz, R., Gomes, L., Henriques, D., Vala, H., Nóbrega, C., Mega, A. C., Melo, C., Malva, M., Braguez, J., Y Mateus, T. L. (2024). Pulmonary and Gastrointestinal Parasitic Infections in Small Ruminant Autochthonous Breeds from Centre Region of Portugal-A Cross Sectional Study. *Animals: an open access journal from MDPI*, 14(8), 1241. <https://doi.org/10.3390/ani14081241>

Programa de Planteles Animales bajo Certificación Oficial (PABCO). (n.d.). Gob.cl. recuperado del 12 de octubre, 2024, de <https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/programa-de-planteles-animales-bajo-certificacion-oficial-pabco>

Radman, N. E., Gamboa, M. I., Y Mastrantonio Pedrina, F. L. (2023). Parasitología comparada. Modelos parasitarios: Parte I. Protozoos (N. E. Radman, M. I. Gamboa, Y F. L. Mastrantonio Pedrina, Eds.). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <https://doi.org/10.35537/10915/148720>

Ramírez-Navarro, V., Lopera-Vásquez, R., Y Rodríguez-Gutiérrez, V. (2023). La criptosporidiosis como enfermedad zoonótica, una revisión. *Agronomía Mesoamericana*, 51759-51759. <https://doi.org/10.15517/am.2023.51759>

Real Academia Nacional de Medicina. (n.d.). Ranm.Es. Consultado el 10 de octubre de 2024,
de

https://dtme.ranm.es/buscador.aspx?NIVEL_BUS=3&LEMA_BUS=fomite%20

Rideout, H., Cook, A. J. C., Y Whetton, A. D. (2024). Understanding the *Cryptosporidium* species and their challenges to animal health and livestock species for informed development of new, specific treatment strategies. *Frontiers in Parasitology*, 3, 1448076. <https://doi.org/10.3389/fpara.2024.1448076>

Roblin, M., Canniere, E., Barbier, A., Daandels, Y., Dellevoet-Groenewegen, M., Pinto, P., Tsaousis, A., Leruste, H., Brainard, J., Hunter, P. R., Y Follet, J. (2023). Study of the economic impact of cryptosporidiosis in calves after implementing good practices to manage the disease on dairy farms in Belgium, France, and the Netherlands. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 4(100149), 100149. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2023.100149>

Romero Salas, D., Rodríguez-Vivas, R. I., Cruz-Romero, A., Aguilar-Domínguez, M., Alarcón-Zapata, M. A., Ojeda-Chi, M. M., Y Flota-Burgos, G. J. (2024). Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en becerros doble propósito de la zona centro de Veracruz, México. *Revista MVZ Córdoba*, 29(3), e3246. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3246>

Salinas Sánchez, A. P. (2019). Eficacia del método de faust modificado para el diagnóstico de enteroparasitosis. Universidad Nacional Federico Villarreal. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/3750>

Sánchez Camacho, J. (2023). Identificación de factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de Ubaté, Cundinamarca. Universidad

Servicio Agrícola y Ganadero. (2011, 15 de enero). Instructivo Anexo Lechero Planteles de Animales bajo Certificación Oficial (I-PP-IT-017). <https://www.sag.gob.cl>

Servicio Agrícola y Ganadero. (2011, 15 de enero). Pauta Anexo Lechero Planteles (F-PP-IT-051). <https://www.sag.gob.cl>

Servicio Agrícola y Ganadero. (2010). Procedimiento: Planteles de animales bajo certificación oficial (PABCO) Especie Bovina (versión 2). Ministerio de Agricultura, Chile. https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/d-pp-it-004_pabco_bovino_v2.pdf

Servicio Agrícola y Ganadero. (2024, 13 de noviembre). Sistema oficial de bioseguridad en establecimientos pecuarios—instructivo y formulario. <https://www.sag.gob.cl>

Siama, A., Kalmobe, J., Simonet Poueme Namegni, R., Abah, S., Y Njan Nlôga, A. M. (2025). Prevalence, distribution, and risk factors of *Cryptosporidium* spp. infection among calves in the Far-North Region of Cameroon. *Journal of Veterinary Science*, 26(3), e41. <https://doi.org/10.4142/jvs.24040>

Suárez R., Pilar, Yáñez D., María José, Fernández F., Ítalo, Y Madrid V., Verónica. (2020). Detection of *Cryptosporidium parvum* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) en ejemplares de cholga *Aulacomya ater*, extraídas desde la costa de la Región del Bío Bío, Chile. *Revista chilena de infectología*, 37(3), 257-262. <https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300257>

Stewart, L. (2024). Método de muestreo por conveniencia en la investigación. ATLAS.ti. <https://atlasti.com/es/research-hub/muestreo-de-conveniencia>

Tamrat, H., Mekonnen, N., Ferede, Y. et al. Estudio epidemiológico sobre diarrea y coccidiosis de terneros en granjas lecheras de Bahir Dar, noroeste de Etiopía. *Ir Vet J* 73, 14 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13620-020-00168-w>

Toro-Mujica, P., Y Vera-Infanzón, R. (2024). Evolving dairy cattle systems in Chile: Structural shifts and adaptation strategies. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 14(15), 2245. <https://doi.org/10.3390/ani14152245>

Van Mol, W. (2022). Enfoques orientados a patógenos para la diarrea neonatal de terneros. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 91(4): 167-181. doi: 10.21825/vdt.85202

Vega Vega, W. G. (2024). COMPARACIÓN ENTRE LAS TÉCNICAS DE SEDIMENTACIÓN, FLOTACIÓN Y COPROPARASITARIO SERIADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE GEOHELMINTIASIS INTESTINAL. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/41980>

Veterquímica. (2023). Parofor Crypto: Solución oral efectiva para el control de *Cryptosporidium* en rumiantes. [Tríptico informativo]. Veterquímica S.A. Recuperado 20 de enero de 2025, de <https://www.veterquimica.cl/productos/paroforcrypto/>

Wilson, P. (2025). Cryptosporidiosis affects four in five UK dairy farms. *The Scottish Farmer*.
https://www.thescottishfarmer.co.uk/livestock/livestock_features/25245535.cryptosporidiosis-affects-four-five-uk-dairy-farms/

Yáñez B., L. (2024). *Ficha Regional: Región de Los Lagos, actualización agosto 2024*. <https://bibliotecadigital.odepa.gob.cl/handle/20.500.12650/8966>

ANEXOS

Protocolo de técnica de Flotación con sulfato de Zinc

La densidad de la solución debe ser de 33% (1,33) de sulfato de Zinc, para ello se debe homogenizar este producto con agua desmineralizada para llegar a la densidad deseada según prospecto del producto. Una vez efectuado esto se comienza con la técnica de flotación.

Materiales:

- Muestra fecal fresca (aproximadamente 2 gramos).
- Solución de sulfato de zinc con una densidad específica de 33%.
- Vaso de precipitados.
- Tamiz fino.
- Tubo de ensayo.
- Varilla de agitación o bajada de lengua.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Microscopio óptico.

Solución de sulfato de zinc: Sulfato de zinc 33,3 gramos + Agua destilada 1litro generaría la concentración de 33%

Preparación de la muestra: Se deposita 2 gramos de heces (sin restos de formalina) en un vaso precipitado limpio y se agrega un poco de agua destilada (7 a 10 ml). Esto se debe mezclar bien hasta homogenizar.

Filtración: La suspensión se pasa a través de un tamiz fino para eliminar partículas gruesas y obtener un filtrado limpio. Luego de esto se puede pasar por la centrífuga para generar un sedimento y eliminar el sobrenadante hasta que quede limpio (1 o 2 veces aproximadamente). La centrifugación debe efectuarse a 2000 a 25000 r.p.m de 2 a 3 minutos. Posteriormente se elimina el sobrenadante del tubo con mucho cuidado sin perder el contenido del fondo del tubo.

Modificación: Al usar tubos de ensayo se debe llenar máximo 2/3 (según tamaño del tubo) para evitar que este rebalse al momento de centrifugar, más recomendado uso de parafilm para mayor seguridad de evitar esto. Además, debo señalar que teniendo en cuenta que las centrifugas son diseñadas para ejecutar esa labor, pero específicamente para un laboratorio de sangre y no para análisis coproparasitario que fue la base de este estudio, por lo tanto, las revoluciones por minuto utilizadas para los análisis pertinentes, teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado fueron 1.500 r.p.m en 2 minutos.

Adición de solución de sulfato de zinc: La suspensión que fue filtrada se transfiere a un tubo ensayo, se le adiciona la solución de sulfato de zinc hasta llenar el tubo (3-4 ml según corresponda) lentamente para evitar la formación de burbujas. Se debe dejar 1 cm del borde del tubo.

Centrifugación posterior a la adicción de sulfato de zinc: Se debe centrifugar la mezcla a 2500 r.p.m por 1 o 2 minutos, otro método descrito es dejar reposar la muestra 20-30 minutos. Esto tiene como finalidad permitir la flotación de los ooquistes, huevos y quistes parasitarios.

Modificación: Teniendo en cuenta la modificación anterior y las razones de esta, se ocupó el mismo criterio del punto anterior. Se llenó 2/3 del tubo con sulfato de zinc, se centrifugó a 1.500 r.p.m

Recolección de muestra: Con el uso de una pipeta Pasteur o por micropipetas se recolecta la superficie de la solución donde se encuentran los “ooquistes”.

Modificación: Por temas prácticos y de facilidad de manejo, se prefirió llenar el tubo hasta poder generar un menisco en el tubo y cubrirlo con un cubreobjeto, esperar 10 minutos para luego pasar el cubreobjeto al portaobjeto y observar en microscopio.

Examen microscópico: Depositar una gota de la muestra recolectada en un portaobjetos. En este caso, como se va a usar tinción Ziehl- Neelsen después se deja secar a temperatura ambiental, en caso de que se formen cristales tratar de eliminarlos con agua destilada con cuidado y continuar con el protocolo de tinción.

El tipo de centrífuga que hay disponible en el laboratorio es un modelo estándar, el cual su principal uso son para muestra de sangre y orina, no específicamente para uso veterinario el cual provee un uso adicional. Que es el uso para análisis coproparásitario, a pesar de eso, este equipo si sirve para otras funciones, solo hay que tener mayores cuidados en el proceso y procurar tener un exhaustivo cuidado con las muestras.

El protocolo de flotación aplicado en este estudio fue adaptado a partir de las metodologías descritas por Vega Vega (2024), Salinas Sánchez (2019) y Martínez-Gordillo, Rufino-González y Ponce-Mantecola (2023), quienes detallan el procedimiento estándar para la identificación de geohelminintos mediante técnicas coproparasitológicas

Protocolo de tinción Ziehl- Neelsen

Tinciones:

- Carbol fucsina
- Ácido alcohol resistente al 1% (Concentraciones: Alcohol-ácido = ácido clorhídrico al 1%).
- Azul de metileno

Procedimiento:

1. Sobre un portaobjetos se hace un frotis de heces.
2. La muestra se fija con metanol absoluto (la laminilla se cubre con metanolabsoluto y se deja que el alcohol se evapore, en este caso por la formalina que tenían las muestras se dejó secar los portaobjetos).
3. Se aplican las gotas de carbol fucsina necesarias para que el portaobjeto se cubra, se calienta la laminilla hasta que produzca vapores (sin que la laminilla se seque) y se deja con el carbol fucsina durante treinta minutos.
4. Se decolora con alcohol-ácido hasta que no quede color en el lavado. Luego, se lava con agua y se deja secar.
5. Se aplica el azul de metileno durante un minuto (10 segundos en este caso)
6. Se lava y seca con aire (durante uno a dos minutos) y se observa con el objetivo de inmersión (100×).

Basados en el protocolo de Martínez-Gordillo, Rufino-González y Ponce-Mantecola (2023).

Modificaciones efectuadas: En primer lugar, debe ser frotis de heces fijadas en formalina para la evaluación de *Cryptosporidium spp.* Esto tiene como base el hecho que al usar muestras que pasaron por coproparásitario de flotación y sedimentación con sulfato de zinc -en este estudio- se evidenció una precipitación de la muestra con la tinción carbol fucsina que no permitió la visualización de las muestras en microscopía.

Registros de información del Muestreo

Recolección de muestras coproparasitarias

Nombre del Propietario:	Número de Contacto:
Nombre del Fundo:	Correo electrónico:

Tipos de tenereras	☐	Estabuladas
	☐	Aire libre
Fecha del muestreo:		

N°	DIO	Sexo	Edad	Consistencias de las heces*	Alimentación^	Conducta	Observaciones
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

* Clasificar las heces según si son semisólidas y con forma pastosas/ líquidas que escurren.

^De acuerdo a la base de alimentación de cada ternero si es: Sustituto lácteo, leche, concentrado, forraje.

Información del predio

Nombre del Propietario:	Número de Contacto:
Nombre del Fundo:	Correo electrónico:

Fecha del muestreo:

Preguntas relacionadas con higiene del lugar

Frecuencia de limpieza del recinto de parto	☐ Una vez por día	☐ Una vez cada dos o tres días	☐ Una vez a la semana
Frecuencia de limpieza del recinto de los terneros	☐ Una vez por día	☐ Una vez cada dos o tres días	☐ Una vez a la semana
Frecuencia limpieza comederos	☐ Una vez por día	☐ Una vez cada dos o tres días	☐ Una vez a la semana
Frecuencia limpieza bebederos	☐ Una vez por día	☐ Una vez cada dos o tres días	☐ Una vez a la semana
Desinfección después de limpieza	☐ Una vez por día	☐ Una vez cada dos o tres días	☐ Una vez a la semana
Tipo de desinfectante	☐ Hipoclorito de sodio ☐ Amonio cuaternario ☐ Pintacal ☐ Otros:_____		

Fuente: Elaboración propia basado en los protocolos de Comité de Bienestar Animal del Consorcio Lechero. (2021). Protocolo de Bienestar Animal para el Sector Lácteo: Terneros y Terneras de Lechería. Consorcio Lechero, Chile.

Tabla de evaluación de bioseguridad en los predios según entrevista efectuada y evaluación en terreno.

Preguntas de entrevista	Puntaje	A	B	C	D	E	F
*Frecuencia de limpieza del recinto de parto.	1-2-3	1	1	1	1	1	1
*Frecuencia de limpieza del recinto de los terneros.	1-2-3	2	1	3	1	1	1
*Frecuencia limpieza comederos.	1-2-3	1	3	3	2	3	1
*Frecuencia de limpieza de bebederos.	1-2-3	1	3	3	2	3	1
*Desinfección después de limpieza.	1-2-3	3	1	1	2	1	1
Evaluación propia de higiene según protocolo de Bienestar animal para sector lácteo							
<i>Según corresponda se elige alguna de las siguientes opciones en relación a la salud de los terneros muestreados:</i>							
A) Ternero vigoroso, curioso, accede al alimento.	3	3	3	3	3	3	3
B) Ternero decaído, se levanta, la nariz opaca, puede acercarse al alimento	2	x	x	x	x	x	x
C) Ternero en decúbito, difícilmente se levanta ante estímulos, no accede al alimento, ojos hundidos y nariz opaca.	1	x	x	x	x	x	x
<i>Según corresponda se elige alguna de las siguientes opciones en relación a la limpieza en sala de parto de las vacas en los predios:</i>							
A) El área de parto se encuentra limpio, seco y bien ventilado.	2	2	x	x	x	x	x
B) El área de parto presenta barro, suciedad, humedad y/o mala ventilación	1	x	1	1	1	1	1
<i>Según corresponda se elige alguna de las siguientes opciones en relación a la iluminación y ventilación en los corrales de terneros:</i>							
>Iluminación de corrales: Óptimo visibilidad al ingresar (3)/ Regular visibilidad al ingresar (2)/ Mala visibilidad al ingresar al recinto (1)	1-2-3	2	3	2	3	2	3
Ventilación de corrales: Bueno: No hay corrientes de viento y no hay olor de "amoníaco" (3)	3	x	3	x	x	3	x
Regular: Hay leves corrientes de viento o no están presentes, se percibe un olor de amoníaco en la ternera (2)	2	2	x	2	2	x	x
Malo: Hay corrientes de aire directamente en el animal o las paredes sólidas que no permiten ventilación (1)	1	x	x	x	x	x	1
<i>Según corresponda se elige alguna de las siguientes opciones en relación a la higiene de los corrales de terneros:</i>							
Limpieza en base de la cola/ miembros: No se ve presencia de heces(3) /moderada presencia heces (2) /severa presencia de heces(1)	1-2-3	3	2	2	1	2	2
Limpieza de comederos: Comederos limpios y sin alimento en mal estado(2)/comederos sucios y/o con alimento en mal estado (1)	1-2	2	2	2	2	2	1
Limpieza de bebederos: Agua limpia con resto comida fresca (3)/sucios pero con agua limpia (2) /sucios, agua con algas y/o heces (1)	1-2-3	2	3	3	3	3	1*
^Limpieza de camas: Cama seca y cómoda(3) /Cama parcialmente seca, húmeda y/o incómoda(2)/Cama totalmente húmeda e incómoda (1)	1-2-3	3	3	2	3	3	2
Total	13-37	27	29	28	26	28	18

Fuente: Elaboración propia basada en los protocolos de Comité de Bienestar Animal del Consorcio Lechero. (2021). Protocolo de Bienestar Animal para el Sector Lácteo: Terneros y Terneras de Lechería. Consorcio Lechero, Chile.

*Los resultados se basaron en la siguiente clasificación: **3 puntos= Una vez por día; 2 puntos= una vez cada dos o tres días; 1 punto= más de una vez a la semana /mes/año.**

>Se basó en mi percepción al ingreso de las terneras, según cuánto podía visualizar y distinguir del recinto con la iluminación natural a las 14:00 horas del día de visita al predio.

^ Se hizo una prueba en donde uno se arrodilla en un punto de la cama de los terneros por 15 segundos, en donde se clasifica la calidad en los siguientes parámetros: **3 puntos= Al levantarse las rodillas están secas y uno no presenta dolor; 2 puntos= Al levantarse las rodillas están un poco mojadas y es una leve molestia de dolor; 1 punto= Al levantarse las rodillas están completamente mojadas y hay mucho dolor en ellas.**

Sistema básico de embalaje/envasado triple o triple embalaje.

Todas las Sustancias Infecciosas deben ser enviadas bajo el Sistema del Triple Embalaje, estableciéndose así una base común de embalaje para todas las clases de Sustancias Infecciosas. El Sistema de Triple Embalaje está compuesto por:

- Recipiente Primario: Corresponde al recipiente que contiene la muestra. Debe ser impermeable y hermético. Debe estar debidamente etiquetado en cuanto a su contenido. El recipiente se debe envolver en material absorbente suficiente para contener la muestra en caso de derrames por rotura o fuga, si la sustancia está en forma líquida o semilíquida.
- Embalaje/Envase Secundario: Corresponde al embalaje/envase que encierra y protege uno o más recipientes primarios. Debe ser impermeable y hermético, a prueba de derrames. En el caso que se coloquen varios recipientes primarios se debe usar suficiente material absorbente para absorber la muestra en caso de rotura o fuga.
- Embalaje/Envase Exterior: Corresponde al envase que protege al recipiente primario y el embalaje secundario de los elementos exteriores, como daños físicos provocados al embalaje durante el transporte. Debe tener una resistencia adecuada al peso, tamaño y composición de los paquetes interiores.

Los documentos con datos de la muestra u otra información documentada se colocan entre el embalaje/envase secundario y el externo.

Extraído de Instituto de Salud Pública de Chile [IPSCH] Guía de bioseguridad para laboratorios clínicos, 2021.



CONSENTIMIENTO INFORMADO

El que suscribe _____ cómo representante del Fundo y/o Empresa _____ entrega su consentimiento para la toma de muestras, procesamiento, análisis y difusión de sus resultados, para el proyecto de memoria de título “Prevalencia de *Cryptosporidium spp.* en rebaños de terneros en predios de la Comuna de Los Muermos, Región de Los Lagos, Entre Enero-Abril 2025”. A cargo del estudiante Sandra Camila Cottenie Bohle del RUT: 21.294.282-4, de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad San Sebastián, sede de la Patagonia, Puerto Montt.

Entiendo que los resultados serán aleatorios y anónimos, además, se me informó oportunamente de la metodología o protocolos de extracción de muestras en el ganado que son acordes a las normas de Bienestar Animal que nos rigen.

Además, se me proporcionará resultados de los estudios y análisis respectivos que abarcará el presente estudio. Una vez firmado el presente documento, dejo expresado la permanencia de participación de este estudio hasta la finalización de este.

El presente consentimiento es expreso para lo que involucra el manejo de toda información concerniente para el que suscribe:

Firma del representante del Fundo y/o Empresa

Firma del estudiante a cargo del estudio

Solicitud para uso de laboratorios en la facultad de Medicina Veterinaria



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN

Solicitud para uso de Laboratorio

Yo, Sandra Camila Cottenie Bohle estudiante de quinto año, me dirijo a usted con la finalidad de solicitar el uso del laboratorio de análisis y microbiología, y algunos insumos de la escuela de Medicina Veterinaria, con el propósito de poder realizar la parte experimental de mi Memoria de Título sobre "PREVALENCIA DE (*CRYPTOSPORIDIUM SPP.*) EN REBAÑOS DE TERNEROS EN PREDIOS DE LA COMUNA DE LOS MUERMOS, REGIÓN DE LOS LAGOS, ENTRE ENERO-ABRIL 2025".

Esta se basa en análisis de copro-parásitario, para el cual necesitare de algunos insumos. Dentro de estos se encuentra una solución de agua destilada, para cual se ocuparía dos litros aproximadamente para analizar las muestras.

Luego de esto se usaría el sistema de flotación con una dilución de sulfato de zinc al 33% que serían aproximadamente 300 gramos de sulfato de zinc que se requerirán el uso de portaobjeto y tubos de centrifuga (alrededor de 90), pipetas Pasteur, vasos precipitados, varilla de agitación, tamiz fino y Centrifugadora. Estaré a cargo de la doctora Gloria Meniconi Ponce en el laboratorio de análisis clínico y microbiológico de la carrera de Medicina Veterinaria.

Estas muestras necesitan la tinción Ziehl Neelsen modificado que posee el Laboratorio de análisis de Histopatología animal, esto es para que las muestras puedan ser visualizadas e identificadas por microscopía, para ellos se ocuparía alrededor de 360ml de cada tinción (Carbofucsina, azul de metileno y alcohol-ácido resistente), uso de microscopio y aceite de inmersión. Estaré bajo cargo de Jeraldine Betsabe y el doctor Frank Vera. Cabe resaltar que esto son valores aproximados de lo que se vaya a usar en estos análisis, en condiciones óptimas de operación.

Esperando su buena acogida le solicito a Ud. la autorización de uso de las instalaciones del laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria para el procesamiento de las muestras de copro-parasitario necesarias para el buen desarrollo de mi Memoria de Título.

Entendiendo que estos insumos tienen un costo, que puede escapar al presupuesto de la facultad. Podría asumirlo o reemplazarlo de acuerdo a las necesidades del laboratorio.

Sin más que agregar y esperando su aceptación y respuesta, agradeciéndole de antemano.



UNIVERSIDAD
SAN SEBASTIAN
SEDE DE LA PATAGONIA

CAROLINA PINO OLGUÍN
RUT 19.078.074-1
MEDICO VETERINARIO

Firma Dirección del Hospital Clínico Veterinario

Facultad de Ciencias de la naturaleza.