

**Universidad Nacional
Facultad Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Pasantía en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela
de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional y en el
Instituto de Parasitología, Universidad de Medicina
Veterinaria Hannover**

Modalidad: Pasantía

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Lyl Andrea Odio Cordero

Tutor: Víctor M. Montenegro Hidalgo, PhD.

Lector: Mario Baldi, PhD.

Lector: Sergio Eduardo Bermúdez Castellero, MSc.

Campus Pbro. Benjamín Núñez, Heredia

2023

TRIBUNAL EXAMINADOR

Laura Bouza Mora, MSc.

Vicedecana de la Facultad de Ciencias de la Salud

Julia Rodríguez Barahona, PhD.

Subdirectora de la Escuela de Medicina Veterinaria

Víctor M. Montenegro Hidalgo, PhD.

Tutor

Mario Baldi, PhD.

Lector

Sergio Eduardo Bermúdez Castillero, MSc.

Lector

Fecha: _____

DEDICATORIA

A mi mamá Ana y mi abuela Virginia que por ellas he logrado todo lo que me he propuesto. A mi esposo Luis que siempre apoya incondicionalmente en todas mis ideas y proyectos.

A mis hermanos, Alex, Andrés y Kari, los mejores que pude tener, cada uno en diferentes momentos me ha motivado.

A mis bebés peludos, Sophie, Skipper, Blackie, Chiky, Amber, Bombo. A mis angelitos Skipper, Lukas y Sabrina. A todos los animalitos que fueron parte de mi vida y que tuve el privilegio de cuidar. Todo es por ellos.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, gracias por ayudarme para poder tener el privilegio de dedicarme tiempo completo a estudiar una segunda carrera.

A Luis, Alonso, Diana y Ricardo, por estar conmigo todos estos años.

A Katherine, Fabi y Ori les agradezco su amistad, apoyo y compañía en este camino.

A los profesores del programa ISAP TiHo-UNA, Dra. Gaby Dolz, Dra. Julia Rodríguez y Dr. Mauricio Pereira, por la oportunidad que me dieron de participar en el intercambio.

De igual manera, agradezco al personal y estudiantes del Instituto de Parasitología, TiHo, por la experiencia tan bonita que tuve con ellos.

A mis compañeros del programa ISAP TiHo-UNA, con los que viví experiencias inolvidables en Alemania.

A César Pérez y a la Dra. Ana Jiménez, por recibirme en el laboratorio y compartir su conocimiento. También a todos los internos con los que compartí mientras rotaron por el laboratorio.

Al Dr. Mario Baldi y al MSc. Sergio Bermúdez, por sus consejos y su colaboración en la revisión de este informe de pasantía.

Al Dr. Víctor M. Montenegro, porque en sus clases nació mi interés por la parasitología. Le agradezco todo el apoyo que me ha brindado como su estudiante, asistente y pasante.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

TRIBUNAL EXAMINADOR	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Justificación e importancia	9
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo general	12
1.3.2 Objetivos específicos.....	12
2. METODOLOGÍA	13
2.1 Área de trabajo	13
2.2 Actividades realizadas	13
2.2.1 Análisis de muestras en el Laboratorio de Parasitología, EMV	14
2.2.2 Giras del Laboratorio de Parasitología, EMV	16
2.2.3 Funcionamiento y gestión del Laboratorio de Parasitología, EMV	17
2.2.4 Análisis de muestras en el laboratorio del Instituto de Parasitología, TiHo	19
2.2.5 Proyectos de investigación del Instituto de Parasitología, TiHo	20
2.3 Registro y análisis de datos.....	21
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1 Casuística del Laboratorio de Parasitología, EMV	23
3.1.1 Especies animales.....	23
3.1.2 Tipos de muestra.....	27
3.1.3 Parásitos Gastrointestinales por especie animal.....	31
3.2 Giras del Laboratorio de Parasitología, EMV.....	39
3.3 Funcionamiento y gestión del Laboratorio de Parasitología, EMV.....	43
3.4 Casuística del laboratorio diagnóstico, Instituto de Parasitología, TiHo	45
3.4.1 Especies animales.....	45

3.4.2	Parásitos Gastrointestinales por especie animal.....	47
3.4.3	Pruebas moleculares.....	54
3.5	Proyectos de investigación del Instituto de Parasitología, TiHo.....	55
3.5.1	Disección y toma de muestras de roedores	56
3.5.2	Análisis de muestras con la técnica FLOTAC®.....	57
3.5.3	Estudios con garrapatas.....	58
4.	CONCLUSIONES	61
5.	RECOMENDACIONES	62
6.	BIBLIOGRAFÍA	63
7.	ANEXOS.....	76
7.1	Claves para la identificación de larvas L3 de nematodos de rumiantes	76
7.2	Protocolo de PCR convencional para la determinación de <i>Echinococcus multilocularis</i> , <i>E. granulosus</i> y <i>Taenia saginata</i>	77
7.3	Protocolo de PCR convencional para la determinación de <i>Babesia</i> spp.....	78
7.4	Protocolo de PCR en tiempo real para la determinación de <i>Borrelia</i> spp.....	79
7.5	Protocolo de PCR en tiempo real para la determinación de ETG.....	80
7.6	Protocolo de disección de roedores.....	81
7.7	Criterio taxonómico para la identificación de roedores.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Porcentaje de muestras por especie animal analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022**23**
- Figura 2.** Porcentaje de muestras por tipo recibidas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.**28**
- Figura 3.** Grupo de garrapatas control en la prueba de inmersión de adultas, recolectadas durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022.**42**
- Figura 4.** Grupo de garrapatas tratadas con Singap® en la prueba de inmersión de adultas, recolectadas durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022.....**43**
- Figura 5.** Porcentaje de muestras por especie examinadas al microscopio durante la pasantía en el Instituto de Parasitología , Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.**46**
- Figura 6.** Dispositivos FLOTAC® utilizados para analizar muestras de bovinos, en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.....**57**
- Figura 7.** Medición del largo del idiosoma y ancho del escudo en una *I. ricinus* adulta, realizada en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.**59**

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** PGI observados en muestras de pequeños rumiantes que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.**31**
- Cuadro 2.** Larvas identificadas en coprocultivos de ovejas analizados en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.**32**
- Cuadro 3.** PGI observados en muestras de aves domésticas que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.**33**
- Cuadro 4.** PGI observados en muestras de perros que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.....**34**
- Cuadro 5.** PGI observados en muestras de animales silvestres que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.**35**
- Cuadro 6.** PGI observados en muestras de gatos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.....**36**
- Cuadro 7.** PGI observados en muestras de equinos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.....**37**
- Cuadro 8.** PGI observados en muestras de cerdos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.....**38**
- Cuadro 9.** PGI observados en muestras de bovinos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.....**39**

Cuadro 10. PGI en bovinos cuyas muestras se analizaron durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022	40
Cuadro 11. Cuantificación de hpg en las muestras de heces analizadas con la técnica de McMaster durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022	41
Cuadro 12. Moscas identificadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022	44
Cuadro 13. PGI observados en muestras de perros que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.....	48
Cuadro 14. PGI observados en muestras de caballos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.....	49
Cuadro 15. PGI observados en muestras de mascotas no convencionales que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022	50
Cuadro 16. PGI observados en muestras de pequeños rumiantes que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022	51
Cuadro 17. PGI observados en muestras de gatos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022	52
Cuadro 18. PGI observados en muestras de aves de corral que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.....	53
Cuadro 19. PGI observados en muestras de bovinos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.....	54

ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

EMV: Escuela de Medicina Veterinaria

ESCCAP: European Scientific Counsel Companion Animal Parasites

ETG: Encefalitis transmitida por garrapatas

DIPOA: Dirección de Inocuidad de Productos de Origen Animal

Dr.: Doctor

Dra.: Doctora

HEMS: Hospital de Especies Menores y Silvestres

hpg: huevos por gramo de heces

ISAP: International Study and Training Partnerships

OHHLEP: One Health High-Level Expert Panel

PCR: Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)

PGI: Parásitos gastrointestinales

TBE: Tick-borne encephalitis

TiHo: Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

TroCCAP: Tropical Council for Companion Animal Parasites

UCR: Universidad de Costa Rica

UNA: Universidad Nacional

%: porcentaje

RESUMEN

Esta pasantía se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria (EMV), UNA, en Heredia, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022, para un total de 320 horas de trabajo. Además, en el marco del proyecto ISAP TiHo-UNA, se realizó también una pasantía en el Instituto de Parasitología, TiHo, en Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.

En el Laboratorio de Parasitología, EMV se participó en la atención de 108 casos, analizando un total de 264 muestras, de las cuales 78 (29.55%) correspondieron a pequeños rumiantes, 63 (23.86%) a aves domésticas, 50 (18.94%) a caninos, 18 (6.82%) a animales silvestres, 14 a felinos (5.30%), 14 a equinos (5.30%), 14 a cerdos (5.30%), diez a bovinos (3.79%) y dos (0.76%) a mascotas no convencionales. De acuerdo con el tipo de muestra, se recibieron 242 (91.67%) de heces, siete (2.65%) de sangre, seis (2.27%) de piel o pelo, seis (2.27%) ectoparásitos y tres (1.14%) hisopados/raspados orales.

En este laboratorio se participó activamente en las tareas diarias y se colaboró con actividades para la docencia. Además, se asistió a una gira a la zona de San Carlos, Alajuela, en donde se tomaron y analizaron 44 muestras de heces de bovinos de leche y de cría. En esta gira, también se recolectaron garrapatas, las cuales se utilizaron para una demostración de la prueba de inmersión de adultas.

En el Instituto de Parasitología, TiHo, en el laboratorio de diagnóstico se observaron al microscopio 290 muestras de heces, de las cuales 107 (36.90%) correspondieron a perros, 94 (32.41%) a caballos, 28 (9.66%) a mascotas no

convencionales, 20 (6.90%) a pequeños rumiantes, 17 (5.86%) a gatos, diez (3.45%) a aves de corral, nueve (3.10%) a bovinos y cinco (1.72%) a cerdos.

En este laboratorio, se observaron procedimientos realizados por los técnicos, como la extracción de ADN/ARN y la ejecución de protocolos de PCR. Se extrajo ADN de huevos de tenia y por medio de PCR se determinó la especie. Además, se extrajo ADN y ARN de una garrapata y se ejecutaron protocolos de PCR para determinar *Babesia* spp., *Borrelia* spp. y Encefalitis Transmitida por Garrapatas (ETG).

En el Instituto también se participó en diferentes investigaciones. Se diseccionó y tomó muestras de 165 roedores, que serían utilizadas para detectar *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. por medio de PCR.

Se analizaron heces de bovinos con la técnica Flotac®, para determinar la presencia de parásitos gastrointestinales.

Se realizó la extracción de ADN de 384 garrapatas de la especie *Ixodes ricinus* recolectadas de perros y gatos, que se utilizará para determinar *Borrelia* spp. y *Anaplasma* spp. por medio de PCR.

Se trabajó con 1144 garrapatas *Ixodes* spp. recolectadas de animales silvestres. Para cada una se determinaron sus dimensiones (para calcular el tiempo de alimentación) y se extrajo su ADN, el que se utilizará para determinar *Borrelia* spp. por medio de PCR.

Además, se tomaron las dimensiones y se realizó la diferenciación de 82 garrapatas obtenidas de vacas lecheras, determinando la especie y su estadio.

Palabras clave: parasitología veterinaria, muestras parasitológicas, garrapatas

ABSTRACT

This internship was done at the Parasitology Laboratory, Veterinary Medicine School, UNA, Heredia, Costa Rica, between June 6th to September 1st 2022, for a total of 320 work hours. Also, as part of the ISAP TiHo-UNA project, an internship was also done at the Parasitology Institute, TiHo, Hannover, Germany, between February 10th to May 25th 2022.

At the Parasitology Laboratory in Costa Rica, a total of 108 cases were evaluated, with a total of 264 samples, which 78 (29.55%) were from small ruminants, 63 (23.86%) from poultry, 50 (18.94%) from dogs, 18 (6.82%) from wild animals, 14 from cats (5.30%), 14 from horses (5.30%), 14 from swine (5.30%), ten from cattle (3.79%) and two (0.76%) from small mammal pets. According to the sample type, 242 (91.67%) were feces, seven (2.65%) were blood, six (2.27%) were skin or hair, six (2.27%) were ectoparasites and three were oral swabs/scraps (1.14%).

At this laboratory, I actively assisted in the daily tasks and in other duties for the Parasitology course. Additionally, I did field work in farms in San Carlos (Alajuela), where a total of 44 feces samples from dairy and beef cattle were collected and analyzed, and ticks were collected from cows to be used in a demonstration of an adult immersion test.

At the Parasitology Institute, TiHo, 290 feces samples were assessed in the diagnostics laboratory: 107 (36.90%) were from dogs, 94 (32.41%) from horses, 28 (9.66%) from small mammal pets, 20 (6.90%) from small ruminants, 17 (5.86%) from cats, ten (3.45%) from poultry, nine (3.10%) from cattle and five (1.72%) from swine.

At this laboratory, procedures executed by the technicians were observed, for example, DNA/RNA isolation and PCR protocols. DNA from taenia eggs was isolated and used to determine the species by PCR. Similarly, DNA and RNA were isolated from a tick and PCR protocols were executed to determine *Babesia* spp., *Borrelia* spp. and Tick-borne Encephalitis (TBE).

At the Institute, there was also participation in research projects. Samples were taken from 165 dissected rodents, which are going to be used to detect *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. and *Babesia* spp. by PCR.

Cattle feces were analyzed using the Flotac® technique, to determine the presence of gastrointestinal parasites.

DNA was isolated from 384 *Ixodes ricinus* ticks collected from dogs and cats, to later determine *Borrelia* spp. y *Anaplasma* spp. by PCR.

Also, 1144 *Ixodes* ticks collected from wild animals were measured (to calculate their feeding time) and their DNA was isolated to determine *Borrelia* spp. by PCR.

As well, 82 ticks collected from dairy cattle were measured and assessed to identify the species and their stages.

Palabras clave: parasitology, veterinary, parasitology samples, ticks

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

El término “parásito” se originó en la antigua Grecia, derivándose de la palabra “parásitos” (“pará” = con, junto a; “sitos” = comer). En esta y otras culturas de la antigüedad, se usaba este término para referirse a los sacerdotes que participaban de los rituales en donde ofrendaban alimentos a los dioses. También, se les llamaba así a los encargados de probar la carne de animales sacrificados antes de estos ser servidos como alimento a los nobles (Hiepe et al. 2011).

A través de la historia, como es descrito por Bush y colaboradores (2001), diferentes civilizaciones registraron su conocimiento sobre organismos parásitos. En el antiguo Egipto alrededor del año 1550 a.C, se documentó en el Papiro Ebers, la existencia de enfermedades parasitarias en los humanos provocadas por helmintos. Hipócrates y Aristóteles (383-322 a.C), se percataron de ciertos gusanos planos que causaban enfermedad y de la presencia de lo que llamaron “semillas” en las heces humanas, para describir probablemente lo que eran proglótides de tenias. Galeno (130-220 d.C), hizo referencia a la especificidad de sitios en el intestino que tenían ciertos gusanos. Para el siglo doce, escritos chinos indicaron que los humanos podían contraer gusanos al comer frutas, vegetales o vísceras.

Sin embargo, el nacimiento de la parasitología como ciencia está ligada a la medicina veterinaria. Francesco Redi (1626-1697), publicó en 1694 la primera monografía científica de parásitos titulada “Observaciones sobre animales vivos, que están en animales vivos”. A partir de ese momento, durante los siglos XVIII y XIX en Europa se publicaron diferentes tratados que aportaron grandes contribuciones a la

parasitología, llevando a los científicos de la época a entender la importancia médica de los parásitos en los humanos y en los animales (Mihalca 2013). Actualmente, en la parasitología general, se estudian tres grupos heterogéneos de agentes patógenos: los helmintos, los protozoos patógenos y los artrópodos transmisores de enfermedades (Hiepe et al. 2011).

En el caso de la parasitología veterinaria, ésta estudia la naturaleza, evolución y características de los agentes parasitarios, sus interacciones como agentes causales de enfermedad y sus efectos en los animales de compañía, de producción y silvestres. Además, se estudian los métodos de prevención y control de las enfermedades parasitarias, los aspectos epidemiológicos y las técnicas de diagnóstico (Bowman 2021).

Bush y colaboradores (2001), definen la parasitología como la ciencia que se encarga de estudiar en específico una de las diferentes formas de relaciones simbióticas existentes, es decir, donde los organismos viven en una asociación cercana el uno con el otro. En este caso, un parásito es una forma de vida, la cual con fines nutricionales y reproductivos, vive de forma temporal o permanente, sobre o dentro de otra forma de vida (hospedador), causándole algún tipo de alteración o daño (Hiepe et al. 2011). El desgaste que sufre el hospedador puede ser trivial, sustancial o incluso insoportable, dependiendo de su estado nutricional y de la cantidad de parásitos, el tipo y grado de daño que estos infligen (Bowman 2021).

En el parasitismo, la relación es antagónica, el parásito tiene efectos negativos en su hospedador, subsistiendo de este y causando un daño apreciable al privarlo de sus nutrientes, perjudicando su productividad y su calidad de vida (Lucius 2018).

Como lo explican Hiepe y colaboradores (2011), el hospedador sufre alteraciones metabólicas cuando el parásito ingresa en su organismo, causando reacciones bioquímicas, biofísicas e inmunológicas que dan lugar a una parasitosis, una condición patológica en donde existe un desequilibrio entre el hospedador y los parásitos.

Por otro lado, existen parásitos que pueden servir como vectores. Algunos de estos organismos transmiten patógenos directamente de hospedador a hospedador hasta que llegan a su hospedador final, y otros vectores pueden transmitir virus o bacterias que no requieren de un hospedador final. Los vectores mecánicos no son esenciales en el ciclo de vida del parásito, funcionan como transporte e inóculos. En el caso de los vectores biológicos, los parásitos suelen desarrollar parte de su ciclo de vida en ellos, llevando a cabo procesos transformativos o multiplicativos (Bowman 2021).

El ciclo de vida incluye el proceso mediante el cual se desarrolla desde la forma producto de la reproducción hasta ser capaz de reproducirse. Existen ciclos monoxenos (de un solo hospedador), diheteroxenos (de un hospedador intermedio y otro definitivo) y triheteroxenos (dos hospedadores intermedios y uno definitivo). El desarrollo final se da en el hospedador definitivo (Lucius 2018).

Ahora, según su ubicación en el hospedador, los parásitos se clasifican en endoparásitos y ectoparásitos. Los primeros se encuentran dentro de su hospedador (tejidos, órganos) y producen infecciones. Los segundos viven en la superficie del hospedador (incluyendo la dermis) o en cavidades, que se comunican con el exterior, causando infestaciones (Bowman 2021).

Los hospedadores también se clasifican en diferentes tipos. El hospedador definitivo es en el que el parásito adulto vive, en donde se albergan los estados sexualmente maduros y se da la reproducción de éstos. El hospedador intermediario alberga fases juveniles, larvianas o estados asexuales; en él se desarrollan estados infectantes para el hospedador definitivo. Un hospedador paraténico alberga estados latentes infectantes para el hospedador definitivo, en donde se mantienen sin ningún tipo de desarrollo. El hospedador accidental es en el cual el parásito es aberrante y no puede continuar su ciclo. Y, por último, el hospedador reservorio es el que alberga formas eventualmente infestantes, pero sin sufrir enfermedad (Bush 2001; Deplazes 2016).

Los parásitos invaden a sus hospedadores a través de su superficie corporal, aperturas corporales naturales y a través del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, por medio del contacto directo con la piel, un organismo puede infestarse con ectoparásitos como los son ácaros o piojos. También se da el ingreso de parásitos de manera pasiva al interior del organismo por la vía fecal-oral, en donde el organismo ingiere alimentos o agua contaminados con huevecillos del parásito. Otra manera de ingreso pasivo se da por la vía oral-alimentaria cuando un hospedador consume carne de un animal infestado. En los ingresos por vía percutánea, ciertos parásitos perforan la piel del hospedador o ingresan inoculados por vectores hematófagos. Varias especies de parásitos se alojan en el sistema digestivo de sus hospedadores definitivos, excretando sus huevos en las heces. También existen nematodos con ciclos de vida en donde los adultos permanecen en el tracto digestivo, y las larvas migran a otros órganos como hígado y pulmón (Deplazes 2016; Lucius 2018).

Las enfermedades parasitarias forman parte de los problemas de salud animal más relevantes. A pesar de los avances en los tratamientos disponibles, estas enfermedades continúan siendo una amenaza para la salud animal y humana, debido a la naturaleza zoonótica de algunos de estos agentes. Por esto, la prevención y el diagnóstico oportuno se han convertido en aspectos esenciales para el bienestar animal y también para disminuir el riesgo de transmisión de estas enfermedades a los seres humanos (Selzer y Epe 2020).

Se han desarrollado diferentes métodos de diagnóstico de infestaciones parasitarias, en donde los procedimientos de laboratorio más utilizados son las diferentes variantes de exámenes de heces (Zajac y Conboy 2012; Bowman 2021). Las muestras se examinan al microscopio con el fin de detectar la presencia de huevecillos o larvas, para lo cual se realizan varias técnicas de procesamiento, como lo son el frotis directo, flotación, McMaster, sedimentación y coprocultivo entre otros (Hendrix y Robinson 2012; College of Veterinary Medicine 2021). La identificación de los huevecillos se realiza por medio de las características de estos, por ejemplo, su tamaño, forma, grosor; y para la identificación de larvas se hace uso de claves que especifican las estructuras presentes en cada género (Taylor et al. 2016). Además, se encuentran disponibles ensayos inmunológicos para la detección de anticuerpos o de antígenos presentes en sangre, fluidos o heces (Jacobs et al. 2016).

Para el diagnóstico de protozoarios y nematodos en la sangre, se hace uso de ensayos inmunológicos comerciales y también se realiza la examinación al microscopio de las células sanguíneas para determinar la presencia de parásitos intracelulares o la presencia de microfilarias en la sangre (Zajac y Conboy 2012).

En el caso de los ectoparásitos, se realizan distintas técnicas de colecta, manejo y conservación que dependerán de la especie a estudiar (Hendrix y Robinson 2012). Para confirmar la presencia de ácaros dérmicos se realizan raspados de piel, tomando en cuenta la naturaleza de la lesión y la ubicación del parásito en cuestión, para posteriormente examinar las muestras obtenidas al microscopio y poder realizar una identificación en base a sus características (Bowman 2021). Ante la presencia de garrapatas, estas se remueven con pinzas, y se identifican por sus características morfológicas o mediante PCR. De manera similar, se identifican piojos y pulgas obtenidos de muestras de pelo recolectadas por medio del cepillado o de manera manual, y se puede hacer uso de ciertas soluciones como Hoyer para poder visualizar de mejor manera las estructuras (Zajac y Conboy 2012).

También se realiza la identificación de dípteros (mosquitos, tábanos, moscas) y hemípteros (chinchas) de importancia médica. Ciertas familias de mosquitos son vectores de nematodos y protozoos. Los tábanos, al alimentarse de sangre, causan lesión a los animales y también, similar a los artrópodos mencionados anteriormente, actúan como vectores de protozoos, virus, bacterias y nematodos. En el caso de las moscas, existen especies hematófagas y también otras en las que sus estados larvales se desarrollan en tejidos vivos, provocando miasis. Por otro lado, los chinchas son insectos hematófagos temporales que además de producir alergias cutáneas y extraer sangre, son capaces de transmitir agentes infecciosos, como el *Trypanosoma cruzi*, responsable de la enfermedad de Chagas (Bush 2001).

En el contexto nacional, en el año 1942, los doctores Clodomiro Picado Twilight y Alfonso Trejos Willis, realizan estudios en diversos grupos animales y publican su

libro “Biología Hematológica Elemental Comparada”, primer texto académico publicado por la Universidad de Costa Rica (reimpreso en el año 2020 en una edición conmemorativa), en donde se discuten diversos temas de la biomedicina, entre ellos la parasitología, describiendo la fisiología de algunos parásitos y las enfermedades que causan (Gutiérrez 2020). En el libro se hace referencia a los tórsalos que parasitan a los bovinos; explican el caso de los “parásitos extraviados”, los cuales penetran en órganos en los cuales no pueden vivir; y mencionan a los parásitos de dos hospedadores, que requieren uno para su estado larvario y otro para su estado adulto (Picado y Trejos 2020).

Gracias a la labor de ambos investigadores, en la década de 1950 se consolidó un colectivo académico que fue la base para la creación de la Facultad de Microbiología de la UCR (Gutiérrez 2020). Para 1955, la sección de Microbiología de la Facultad de Ciencias se convierte en la Facultad de Microbiología, y en 1958 se organiza en dos departamentos: el de Microbiología y el de Parasitología (Facultad de Microbiología 2021a), este último conformado por tres secciones: helmintología, protozoología y entomología médica (Facultad de Microbiología 2021b).

El estudio de la parasitología veterinaria en Costa Rica se oficializa en 1973 a partir del nacimiento de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, la cual se constituye debido a la necesidad de “crear una unidad académica que graduara especialistas en esta área, preparara personal docente de alta calidad y que ofreciera laboratorios y servicios de diagnóstico que vinieran a llenar un vacío existente en el país” (Escuela de Medicina Veterinaria 2021a).

Así, de manera similar a los otros laboratorios, el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria se establece con el fin de brindar apoyo a la población propietaria de mascotas, a los manejadores de la vida silvestre, al sector productivo, al sector salud y a la academia. En el Laboratorio se lleva a cabo el diagnóstico de endoparásitos y ectoparásitos en animales domésticos y silvestres. Por medio del servicio externo se atiende al público en general y con el servicio interno se atiende los hospitales veterinarios de la Universidad Nacional, el Hospital Equino y el Hospital de Especies Menores y Silvestres. Además de estos servicios, también se trabaja en docencia y en proyectos de investigación y de extensión (Escuela de Medicina Veterinaria 2021b).

Asimismo, el laboratorio recibe investigadores de otros países y brinda apoyo a estudiantes que realizan sus trabajos finales de graduación de licenciatura y posgrado, siendo algunos de los más recientes: “Diagnóstico de campo y laboratorial de parasitosis gastrointestinales en ovinos de Costa Rica” de Arnaéz (2019), “Prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos cebú en explotaciones de ganado de cría en Costa Rica: estudio preliminar” de Vargas (2020), y “Desarrollo de una técnica inmunoenzimática para el diagnóstico de anticuerpos contra *Paragonimus mexicanus*” de Andrade (2020).

1.2 Justificación e importancia

Los parásitos pueden provocar enfermedad aguda, daño debilitante y crónico, hasta la muerte en los animales. Las consecuencias perjudiciales del parasitismo pueden no ser evidentes, presentándose como una enfermedad subclínica. Por estos motivos, es importante que el médico veterinario posea el conocimiento y la comprensión necesarios para combatir las enfermedades parasitarias de una manera eficaz (Jacobs et al. 2016).

El estudio de los agentes parasitarios y sus interrelaciones que influyen la salud animal es área de conocimiento fundamental. El bienestar animal se ve afectado cuando el animal se enferma y sufre por los síntomas causados en parasitosis. En los sistemas de producción animal afectados por estas parasitosis se generan pérdidas económicas debido a que los animales enfermos no logran alcanzar su máximo potencial de producción, asociado a los efectos del gasto energético y de recursos dedicados a tratar de controlar o eliminar el efecto de los parásitos en el hospedero (animal). En lo que respecta a la salud pública, las enfermedades parasitarias pueden ser transmisibles a los humanos (zoonosis), y algunos de estos parásitos tienen ciclos directos o ciclos que incluyen vectores artrópodos (Coles 2001; Jacobs et al. 2016; Selzer y Epe 2020).

El rol del médico veterinario tiene cada día mayor relevancia en la parasitología, ya que actualmente la medicina enfrenta diversos retos que dificultan en mayor medida el control, prevención y el tratamiento de las enfermedades parasitarias. Nuevas amenazas asociadas al cambio climático, aumento en distribución de enfermedades transmitidas por vectores, las enfermedades parasitarias emergentes o reemergentes

y aumento en la incidencia en la resistencia a fármacos antiparasitarios (Elsheikha 2014).

Bowman (2021) señala que las enfermedades transmitidas por vectores han cobrado mayor importancia en los últimos años como resultado de nuevos agentes emergentes y de la expansión geográfica de las poblaciones de artrópodos y patógenos transmitidos por estos. El autor también indica que el aumento de estas enfermedades puede atribuirse al crecimiento de las poblaciones de vectores por su propagación hacia nuevas áreas, a la expansión del hábitat de poblaciones de reservorios de vida silvestre, y a los cambios biogeográficos y climáticos que favorecen a los vectores, aumentando así las tasas de transmisión.

A nivel mundial se tiene problema con poblaciones de parásitos que originalmente eran sensibles a un antiparasitante y que han desarrollado resistencia, limitando o perdiendo del todo su eficacia (Deplazes et al. 2016). Por ejemplo, en un reciente estudio, en el cual colaboró el Laboratorio de Parasitología, se determinó la resistencia antihelmíntica en granjas comerciales de ovejas en Costa Rica, confirmando que las principales moléculas disponibles en el país han perdido su efectividad contra los nematodos de ovinos (Castro-Arnáez et al. 2021).

Además, las infestaciones parasitarias por su complejidad deben ser abordadas bajo el concepto de UNA SALUD. Como lo indica el Panel de Expertos de Alto Nivel de "Una Salud" (OHHLEP), este enfoque integrado tiene como objetivo equilibrar y optimizar de manera sostenible la salud de las personas, los animales y los ecosistemas, reconociendo que la salud de los seres humanos, los animales domésticos y silvestres, las plantas y el entorno, están estrechamente vinculados y

son interdependientes (Dvorin 2022). Las enfermedades parasitarias que afectan tanto animales como seres humanos en sus ciclos directos o indirectos, por ejemplo, fascioliasis, cisticercosis, criptosporidiosis, toxoplasmosis, ascariosis o las de naturaleza vectorial (Leishmaniasis, tripanosomiasis, babesiosis, entre otras), son algunas de las que deben ser estudiadas de una manera holística.

Deplazes y colaboradores (2016) indican que las zoonosis son consideradas una amenaza para la salud humana, ya que, de acuerdo con información de la OMS, el 35% de las zoonosis descritas son causadas por parásitos, principalmente las transmitidas por artrópodos y por alimentos, siendo los médicos veterinarios quienes de alguna manera están más involucrados en el entender estos agentes parasitarios y su efecto a todo nivel, siendo ellos clave en la prevención de este tipo de enfermedades.

Estas razones justifican la importancia del estudio de la parasitología como parte del currículo de la carrera de Licenciatura en Medicina Veterinaria, así como el deseo de poder reforzar los conocimientos y habilidades adquiridos durante la carrera, lo cual se logró realizar con la participación en las actividades diarias del Laboratorio de Parasitología. La parasitología veterinaria y la salud pública son áreas de interés profesional, conocimientos que se espera poder ampliar en el futuro a través de estudios de especialización.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Fortalecer los conocimientos teóricos y habilidades prácticas en parasitología veterinaria, mediante la participación en una pasantía en esta área, en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Reforzar las habilidades requeridas para la colecta adecuada y el manejo correcto de muestras de heces, sangre y piel, así como de ectoparásitos.
2. Mejorar destrezas en la elección de la técnica de laboratorio idónea, según el tipo de muestra recibida y la especie animal a la que pertenezca, para así conocer cómo realizar el diagnóstico de agentes parasitarios, de acuerdo a cada caso.
3. Desarrollar habilidades para realizar una colecta adecuada de muestras y su análisis a nivel de campo, por medio de la participación a giras que lleva a cabo el Laboratorio.
4. Obtener las competencias necesarias para la gestión eficiente de un laboratorio de diagnóstico en parasitología veterinaria al participar en el funcionamiento diario y organización del Laboratorio.

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de trabajo

La pasantía se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, ubicado en el Campus Benjamín Núñez, Lagunilla de Heredia. Tuvo una duración de 320 horas de trabajo, siendo realizada del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022, de lunes a jueves de 9:00 am a 4:00 pm, horario que tuvo flexibilidad para ampliarse cuando se asistió a giras. El trabajo fue supervisado por el Dr. Víctor M. Montenegro.

Además, en el marco del proyecto ISAP TiHo-UNA, se realizó también una pasantía en el Instituto de Parasitología de la Universidad de Medicina Veterinaria Hannover (TiHo), Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022 en un horario de lunes a viernes de 9:00 am a 4:00 pm.

Ambas estancias se realizaron con la finalidad de completar una pasantía en el área de parasitología diagnóstica.

2.2 Actividades realizadas

Durante la pasantía en el Laboratorio de Parasitología, EMV, se participó junto al personal y a estudiantes de internado rotatorio en la recepción de muestras, en su manejo y análisis. En la asistencia a giras se participó en la recolección y análisis de muestras, siendo también responsable de preparar los materiales necesarios para realizar este trabajo a campo. Se colaboró con el funcionamiento del laboratorio en cuanto a la preparación de materiales, con la entrega de resultados de los análisis realizados, en la limpieza del área de trabajo y del instrumental y en el manejo

adecuado de desechos. También se brindó asistencia en actividades de planeación para los laboratorios del curso de Parasitología y Enfermedades Parasitarias I, en donde se recolectaron e identificaron dípteros (moscas) y se prepararon materiales a utilizar por los estudiantes.

En el Instituto de Parasitología, TiHo, se participó en actividades del laboratorio de diagnóstico junto con los técnicos de laboratorio, como el análisis de muestras, la examinación de láminas de resultados, y la observación de ejecución de protocolos para la extracción de ADN/ARN y técnicas de PCR. Además, se colaboró con estudiantes de doctorado en actividades relacionadas a proyectos de investigación: se realizó la disección y toma de muestras de roedores, se asistió en el análisis de muestras de heces de bovinos y se trabajó con garrapatas, realizando extracción de ADN, tomando sus dimensiones e identificándolas.

2.2.1 Análisis de muestras en el Laboratorio de Parasitología, EMV

El laboratorio brinda servicios al público en general, a los hospitales de la EMV, a proyectos de investigación y a estudiantes. Para cada muestra recibida se anotó en la bitácora del laboratorio: fecha, número de caso, remitente, análisis a realizar, cantidad de muestras, categoría (correspondiente al tipo de servicio) y persona quien recibe la muestra. Además, se le brindó al remitente un formulario en donde se indicó: especie, raza, sexo, edad, procedencia, historia, material remitido, cantidad de muestras, análisis solicitado y datos de contacto (correo electrónico y teléfono).

En el caso de muestras de heces que no se procesaron inmediatamente, estas se identificaron con el número de caso y se mantuvieron en refrigeración. Al momento de procesarlas, se procedió a preparar los materiales necesarios para realizar la técnica apropiada según cada caso:

- Flotación (Sheather): para determinar la presencia de ooquistes de coccidios y huevos de nematodos, cestodos y acantocéfalos.
- Sedimentación: para detectar huevos de trematodos, quistes de protozoarios y nematodos como *Spirocerca lupi*.
- Directo salina-lugol: para determinar la presencia protozoarios como *Giardia* spp., ooquistes de coccidios o huevos de nematodos.
- McMaster: para determinar los huevos por gramo de heces de algunos nematodos, principalmente huevos del Orden Strongylida.
- Coprocultivo: para determinar géneros de larvas de nematodos del Orden Strongylida
- Inmunocromatografía: para la detección de antígenos de *Cryptosporidium parvum* y/o *Giardia duodenalis*.

Cada técnica se ejecutó según los procedimientos del laboratorio (Schmäsckke 2014).

Se observaron los resultados al microscopio para determinar la presencia de parásitos en la muestra (de acuerdo con las descripciones morfológicas de huevos y ooquistes indicadas en Foreyt 2001 y Schmäsckke 2014), determinar la cantidad de huevos por gramos de heces y determinar los géneros de larvas (según las claves indicadas en el Anexo 7.1). En el caso de la inmunocromatografía, se interpretó el

resultado obtenido en la tira de análisis para determinar si la muestra era positiva a *Cryptosporidium parvum* y/o a *Giardia duodenalis*, al detectar antígenos de estos agentes, como se describe en kit de análisis utilizado, FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip (Megacor 2021).

Las muestras pertenecientes a proyectos de investigación externos al Laboratorio se procesaron como parte de los servicios ofrecidos, de igual manera que las demás muestras recibidas, reportando los hallazgos según las pruebas solicitadas. Este es el caso de las muestras provenientes de animales silvestres, las cuales forman parte de un proyecto de investigación a cargo del Dr. Mauricio Jiménez. Los procedimientos para la captura de estos animales, la toma de muestras y otros estudios fueron realizados por personal del HEMS.

En cuanto a otros tipos de muestras, en el laboratorio se identificaron garrapatas (según las claves descritas por Pratt 1967, Barros-Battesi y colaboradores 2006) y una larva de mosca (según la diferenciación descrita en el manual de la Comisión México-Americana para la erradicación del gusano barrenador 2010).

También se analizaron muestras de piel/pelo, utilizando hidróxido de potasio (KOH) para el aclarado de posibles ácaros presentes en ellas. Además, se recibieron muestras de sangre, a las cuales se les realizó un hemograma por medio del equipo de análisis hematológico VetScan® HM5.

2.2.2 Giras del Laboratorio de Parasitología, EMV

Con fines didácticos, se realizó una gira a la zona de San Carlos, Alajuela. Previo a la gira se prepararon los materiales para la recolección y procesamiento de

muestras de heces de bovinos, así como para la recolección e identificación de garrapatas.

Se visitaron fincas lecheras y de cría en donde se recolectaron las heces directo de los animales, siendo cada una rotulada con la identificación del animal. Se transportaron en hielera para su debida conservación y se analizaron al microscopio ese mismo día, utilizando las técnicas de Sheather, sedimentación y McMaster.

También se recolectaron garrapatas, directamente de los bovinos. Estas se identificaron utilizando un estereoscopio al examinar las características de sus palpos, base del capítulo y escudo, como describe Álvarez (2003). Además, se observó una demostración de la prueba de inmersión de garrapatas adultas, técnica que permite diagnosticar resistencia a acaricidas según la oviposición obtenida posterior al uso de los productos en relación con la oviposición de un grupo control (FAO 1999).

2.2.3 Funcionamiento y gestión del Laboratorio de Parasitología, EMV

Como se mencionó anteriormente, para la realización del análisis de las muestras, se prepararon los materiales (como la elaboración de la solución hipersaturada de azúcar que se usa en la técnica de Sheather) y el instrumental a utilizar: beakers, tamices, paletas, placas de Petri, portaobjetos, balanza, probetas, goteros, entre otros.

Una vez concluidos los análisis, se procedió a limpiar y desinfectar el área de trabajo, así como el instrumental utilizado. Los materiales no reutilizables y muestras ya procesadas se descartaron en bolsas rojas para residuos de riesgo biológico, las cuales se llevaron al depósito de desechos bioinfecciosos de la EMV.

Para la entrega de resultados, los correspondientes al servicio externo fueron notificados por el técnico de laboratorio. Los resultados del servicio interno se entregaron al personal de los hospitales de la EMV. Los resultados de proyectos de investigación y de docencia fueron recolectados por los remitentes. Cada entrega se registró en una bitácora, conteniendo la fecha de entrega, nombre y firma de quien la recibió. A los remitentes se les entregó el original y una copia del resultado, archivando otra copia en el laboratorio.

También se colaboró con la captura e identificación de moscas, para ser utilizadas en los laboratorios del curso mencionado. Estos insectos se capturaron en las cuadras de la EMV. Se realizó su montaje y se examinaron en el estereoscopio para su identificación por medio de la observación del color del tórax y abdomen, de la forma de la cuarta vena de las alas y de la morfología de su probóscide como ha sido descrito por Scott y Littig (1963).

Además, se prepararon los materiales necesarios para la recolección, preparación y montaje de artrópodos, asimismo láminas fijas (pertenecientes a la colección del laboratorio) de ectoparásitos y de protozoarios, los cuales se requirieron para las prácticas de los estudiantes del curso.

2.2.4 Análisis de muestras en el laboratorio diagnóstico del Instituto de Parasitología, TiHo

El laboratorio diagnóstico del Instituto de Parasitología, TiHo recibe muestras de heces para la detección de endoparásitos y también recibe garrapatas para su identificación y para la detección de patógenos en ellas.

Durante la pasantía se asistió en el análisis de muestras de heces por medio del método combinado de flotación-sedimentación y la técnica McMaster utilizando tres celdas, según las describen Becker y colaboradores (2016); además se examinaron láminas de resultados al microscopio.

Los técnicos del laboratorio realizaron procedimientos de extracción de ADN/ARN y protocolos de PCR, los cuales fueron observados por la pasante.

Se ejecutó el protocolo para extraer ADN de huevos de tenia presentes en heces de perro, lo cual se realizó utilizando el kit NucleoSpin® Genomic DNA from tissue, siguiendo los pasos descritos en el manual de usuario (Macherey-Nagel 2017). Este ADN se utilizó para determinar *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus* y *Taenia saginata* por medio de PCR convencional (según el protocolo indicado en el Anexo 7.2).

De manera similar, se llevó a cabo el protocolo para la extracción de ADN y ARN de garrapatas, descrito en las instrucciones del kit blackPREP Tick DNA / RNA (Analytik Jena 2018). Se utilizó el ADN para la determinación de *Babesia* spp. por medio de PCR convencional (según el protocolo indicado en el Anexo 7.3) y de *Borrelia* spp. por medio de PCR en tiempo real (según el protocolo indicado en el Anexo 7.4),

y el ARN para determinar ETG por medio de PCR en tiempo real (según el protocolo indicado en el Anexo 7.5).

2.2.5 Proyectos de investigación del Instituto de Parasitología, TiHo

En el área de investigación, el Instituto realiza estudios sobre parásitos gastrointestinales, zoonosis parasitarias y enfermedades transmitidas por garrapatas. Durante la pasantía se participó en actividades de diferentes investigaciones.

Se trabajó en la disección y toma de muestras de diferentes especies de roedores (siguiendo el protocolo descrito en el Anexo 7.6 y los criterios taxonómicos descritos en el Anexo 7.7), las que serán posteriormente analizadas para la detección por medio de PCR de *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. Estos roedores fueron capturados por personal del Instituto en el año 2020, en el norte de Alemania y se mantuvieron en congelación hasta el momento de su disección. Las muestras recolectadas fueron: ectoparásitos presentes en el espécimen (pulgas y garrapatas), orejas, piel, bazo, tracto gastrointestinal, heces, fluidos de la cavidad torácica, cerebro y fetos.

Se colaboró en una investigación de una estudiante de doctorado, quien recolectó muestras de heces de vacas lecheras en fincas ubicadas en Baja Sajonia. Se participó en el procesamiento de estas muestras para la determinación de PGI por medio de la técnica Flotac® para herbívoros, utilizando una solución de flotación de sulfato de zinc, como describen Cringoli y colaboradores (2010).

Para un proyecto de doctorado, se asistió en la extracción de ADN de garrapatas *Ixodes ricinus* de perros y gatos pacientes de clínicas veterinarias de Baja

Sajonia, las cuales fueron recolectadas por la estudiante de doctorado a cargo. Se utilizó el protocolo descrito en el manual de usuario del kit de NucleoSpin® 96 Genomic DNA from Blood (Macherey-Nagel 2019). El ADN será utilizado para determinar *Borrelia* spp. y *Anaplasma* spp. por medio de PCR.

Como parte de otro estudio, se determinaron las dimensiones de garrapatas *Ixodes* spp. ninfas y hembras adultas que fueron recolectadas de animales silvestres de Baja Sajonia por estudiantes de doctorado del Instituto. Se utilizó un estereoscopio y el software Olympus cellSens® para medir el largo del idiosoma, el ancho del escudo y la distancia entre las coxas IV. Con estos datos se determinará el tiempo de alimentación sobre el hospedador, según lo descrito por Gray y colaboradores (2005). Además, se extrajo ADN (con el kit de NucleoSpin® 96), el cual se utilizará para determinar *Borrelia* spp. por medio de PCR.

En la última investigación en la que se participó, se realizó la diferenciación de garrapatas obtenidas de vacas lecheras de la región de Hannover y recolectadas por personal del Instituto. Se examinaron para determinar la especie y si se trataban de ninfas, machos o hembras como ha sido descrito por Estrada-Peña y colaboradores (2017). Posteriormente, se tomaron sus dimensiones, las que también se utilizarán para calcular el tiempo de alimentación de estas garrapatas.

2.3 Registro y análisis de datos

Se llevó un registro de cada muestra recibida en el Laboratorio de Parasitología, EMV durante la pasantía, así como de las muestras recolectadas y analizadas durante la gira realizada: número de caso, identificación de la muestra, material recibido, fecha

de recepción, fecha de análisis, especie, raza, sexo, edad, procedencia, historia clínica, análisis realizado y resultado del análisis.

También se registraron los datos de las muestras de heces examinadas en el laboratorio diagnóstico del Instituto de Parasitología, TiHo, tomando en cuenta: identificación de la muestra, fecha de recepción, fecha de análisis, especie, análisis realizado y resultado del análisis.

De manera similar, se registraron datos relacionados a los proyectos de investigación en los cuales se colaboró en el Instituto de Parasitología, TiHo. Para la disección de roedores se registró: fecha de la disección, especie del roedor, sexo del roedor, especie y ectoparásitos recolectados. En cuanto a las extracciones de ADN de garrapatas se tiene registro de: número de aislamiento, fecha del aislamiento, identificación de la muestra, identificación de la garrapata y si se encontraba repleta. Para la medición e identificación de garrapatas los datos registrados fueron: identificación de la muestra, identificación de la garrapata, estadio, largo del idiosoma, ancho del escudo y distancia coxal.

Todos datos se registraron en Microsoft Excel® y se analizaron por medio de estadística descriptiva, siendo la información representada por medio de gráficos y cuadros.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Casuística del Laboratorio de Parasitología, EMV

Durante el transcurso de la pasantía en el Laboratorio de Parasitología, EMV se atendieron 108 casos, para un total de 264 muestras procesadas.

3.1.1 Especies animales

Según la especie animal (Figura 1), se analizaron 78 (29.55%) muestras de pequeños rumiantes, 63 (23.86%) de aves domésticas, 50 (18.94%) de perros, 18 (6.82%) de animales silvestres, 14 de gatos (5.30%), 14 de equinos (5.30%), 14 de cerdos (5.30%), diez de bovinos (3.79%) y dos (0.76%) de mascotas no convencionales.

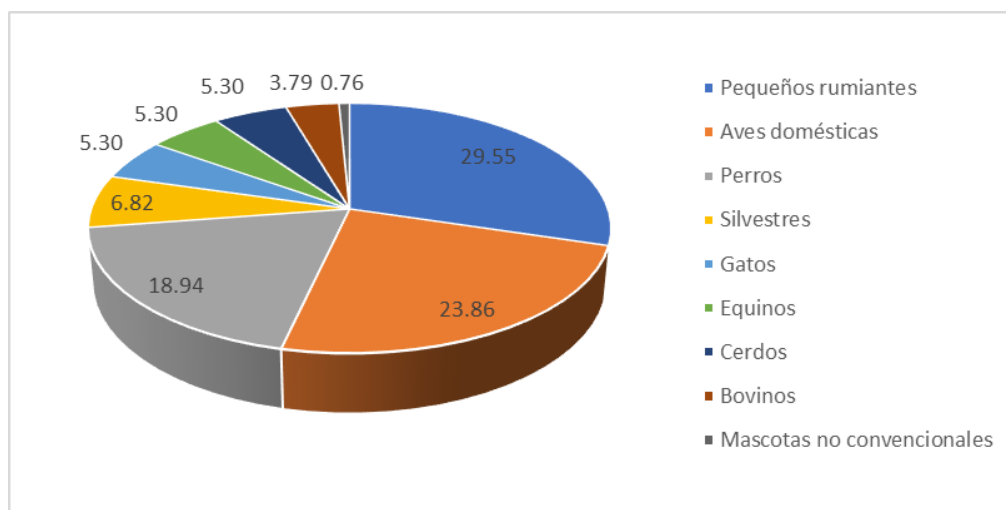


Figura 1.

Porcentaje de muestras por especie animal analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

De las 78 muestras de pequeños rumiantes, 51 (65.38%) fueron de cabras y 27 (34.62%) de ovejas, en donde todos los análisis de heces se realizaron por control. Estos controles son útiles para determinar la necesidad de desparasitar o no a los animales en base a los resultados obtenidos según la presencia de parásitos, el conteo de huevos por gramos de heces y el uso del método FAMACHA (Bowman 2021).

Con respecto a las muestras de aves domésticas, 54 (85.71%) correspondieron a aves de engorde (Ross, Cobb), cinco (7.94%) a aves de postura (Araucana, Brahma) y cuatro (6.35%) a un gallo mascota.

Las aves comerciales se muestrearon como control para determinar la presencia de parásitos en ellas. La avicultura intensiva hace uso del conocimiento científico y de la tecnología para el control de enfermedades parasitarias, las cuales, aun cuando pudiesen presentarse de forma subclínica, tienen un impacto significativo en la ganancia de peso y la conversión alimenticia (Jacobs et al. 2016).

En cuanto al gallo, este presentaba un historial de inapetencia, heces acuosas y verdosas, además de sospecha de *Trichomonas* spp. debido a la presencia de lesiones orales, por lo cual se remitieron al laboratorio muestras de heces, dos hisopados orales y un raspado oral. *Trichomonas gallinae* se puede encontrar en lavados e hisopados de buche de palomas y aves de corral, mediante un frotis salino directo, caracterizándose por poseer cuatro flagelos anteriores (Hendrix y Robinson 2012).

De las muestras recibidas de perros, 23 (46.93%) provinieron de animales a quienes se les realizó el examen por control, 21 (42.85%) eran de animales con

alteraciones gastrointestinales (inapetencia, diarrea o heces anormales, vómito, gastroenteritis) y cinco (10.20%) de animales con lesiones en piel. El Consejo Tropical para el Control de los Parásitos en Animales de Compañía, recomienda realizar al menos cada tres meses, pruebas de detección de PGI en el caso de los perros, aparte de las pruebas que se realizan para confirmar un diagnóstico (TroCCAP 2019a).

En cuanto a las lesiones de piel, en los perros pueden deberse a infestaciones de ácaros, las cuales se diagnostican mediante raspados observados al microscopio (para *Demodex* spp., *Sarcoptes scabiei* y *Notoedres cati*), extracciones de pelos (para *Cheyletiella* spp.) o examen de oídos con otoscopio (para *Otodectes cynotis*) (TroCCAP 2022).

Para los animales silvestres, se analizaron muestras de diferentes especies: venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), mapache (*Procyon lotor*), perezoso de tres dedos (*Bradypus tridactylus*), coyote (*Canis latrans*), ardilla centroamericana (*Sciurus variegatoides*), jaguar (*Panthera onca*), zarigüeya (*Didelphis* spp.) y búho de anteojos (*Pulsatrix perspicillata*). En este caso, las pruebas coproparasitológicas complementarán otros estudios realizados a estos animales en el HEMS.

Con respecto a los gatos, diez (71.43%) de las muestras, se analizaron por control, tres (21.43%) debido a que el animal presentaba diarrea y una (7.14%) fue una muestra referida de un laboratorio privado para confirmar un diagnóstico de *Spirometra* spp. En gatos, se recomienda realizar pruebas diagnósticas de endoparásitos dos veces al año (sobre todo si salen de casa), para comprobar la

eficacia de los planes de control y el cumplimiento de estos por parte de los propietarios (TroCCAP, 2019b).

Sobre las muestras de equinos, nueve (64.29%) se analizaron como control y cinco (35.71%) debido a que los caballos tenían pérdida de peso y una baja condición corporal. Dado que los caballos siguen siendo vulnerables al parasitismo a lo largo de su vida, se ha acostumbrado a desparasitarlos periódicamente, dando lugar a problemas de resistencia, por lo cual se recomiendan otras prácticas como realizar el conteo de huevos en heces para desparasitar solo si es necesario y así mantener la utilidad de los antihelmínticos aún efectivos (Jacobs et al. 2016).

En cuanto a los cerdos, bovinos y mascotas no convencionales (un conejo y un jerbo), todas las muestras remitidas fueron por motivos de control parasitario.

En los cerdos en el examen de heces se pueden identificar agentes de importancia en estas explotaciones. Las infecciones por coccidios son comunes, aunque pueden no producir una enfermedad clínica. También pueden infectarse de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia duodenalis*, los cuales son agentes zoonóticos. Y en el caso de *Ascaris suum*, la migración de larvas a través del hígado y los pulmones es causa de decomiso y puede predisponer a los animales a una neumonía bacteriana o viral (Zajac y Conboy 2012).

En las heces de los bovinos, pueden estar presentes una variedad de endoparásitos. Entre los nematodos, lo más común es encontrar huevos del Orden Strongylida, además de *Strongyloides papillosus*, *Trichuris* spp., *Capillaria* spp. y

larvas L1 de *Dictyocaulus viviparus*; además, se pueden observar cestodos (como *Moniezia* spp.), trematodos (como *Fasciola hepatica*) y coccidios (Bowman 2021).

Las mascotas no convencionales como conejos y jerbos pueden presentar coccidios de las especies del género *Eimeria* spp., ubicándose en el tracto intestinal y en el caso de *E. stiedae*, en los ductos biliares de los conejos. Los roedores también pueden ser infectados con especies de *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp. En cuanto a nematodos, estos animales pueden presentar infecciones subclínicas de Oxiuridios, ascaridios y estrogílicos. Con respecto a cestodos, los roedores domésticos pueden infectarse con las especies *Hymenolepis* spp., siendo el humano y otros primates hospedadores de *H. nana*; y en el caso de los conejos, pueden verse afectados por *Cittotaenia* spp. la cual provoca pérdida de peso (Zajac y Conboy 2012).

3.1.2 Tipos de muestra

De acuerdo con el tipo de muestra (Figura 2), se recibieron 242 (91.67%) correspondientes a heces, siete (2.65%) de sangre, seis (2.27%) de piel o pelo, seis (2.27%) ectoparásitos y tres (1.14%) hisopados/raspados orales.

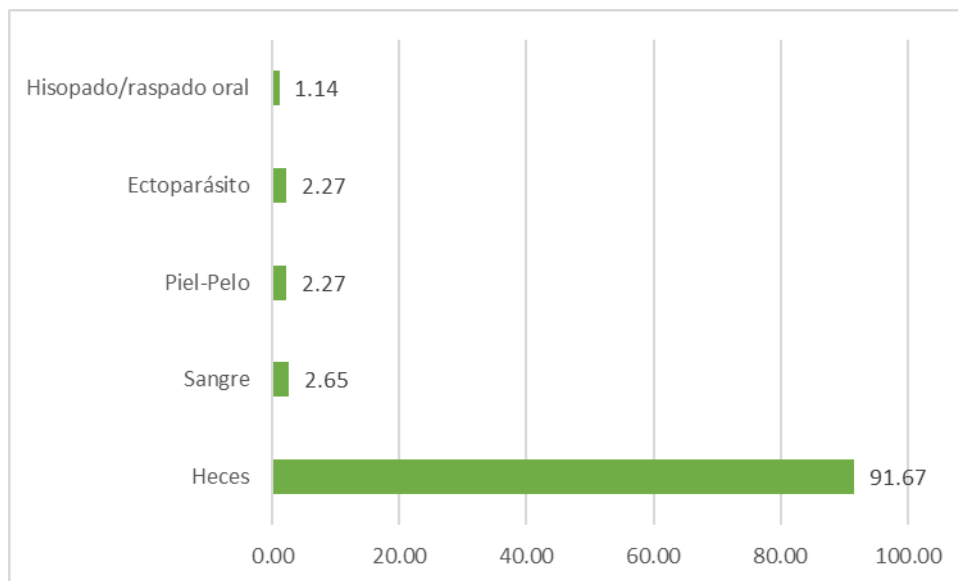


Figura 2.

Porcentaje de muestras por tipo recibidas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

La mayoría de las muestras recibidas en el laboratorio, correspondieron a heces, las que se analizaron como parte de pruebas de control o para confirmar un diagnóstico presuntivo. Los exámenes coproparasitológicos son de gran utilidad en la medicina veterinaria porque brindan información sobre los endoparásitos que pueda tener un animal, ya que en las heces se pueden encontrar ooquistes, quistes, huevos, larvas y adultos de parásitos que se alojan en diferentes órganos (Rodríguez 2015).

Se recibieron también muestras de sangre de cabras, a las cuales se les realizó un hemograma. Los resultados fueron normales excepto en uno de los animales, el cual presentó anemia. En el caso de esta cabra en específico, el conteo de huevos por gramo de heces fue alto (16900 hpg), lo cual podría explicar su anemia, ya que el caso

de nematodos como *Haemochus contortus*, succionan sangre del abomaso del animal provocando una anemia hemorrágica aguda (Taylor et al. 2016). Se ha descrito que *H. contortus* es capaz de producir un factor hemolítico que provoca cambios en la superficie de los eritrocitos, contribuyendo también al desarrollo de la anemia, la cual provoca una reducción significativa en la producción de animales, que se refleja en una disminución en el crecimiento de animales jóvenes y una disminución en la producción de leche de animales lactantes (Arsenopoulos et al. 2021).

Las muestras de piel/pelo correspondieron a raspados, cinco (83.33%) de perros y uno (16.67%) de una cabra, en donde las lesiones en piel reportadas en el historial de los animales fueron alopecia, prurito, costras, erosiones y dermatitis principalmente. Las muestras de perros también fueron examinadas por el Laboratorio de Micología, EMV, en caso de que se tratara de una afectación por hongos. En las muestras analizadas no fue posible determinar la presencia de ácaros debido a que la muestra era insuficiente. Con los raspados de piel es importante que se obtengan teniendo en cuenta la naturaleza de la lesión y la ubicación, así como, si se sospecha de ácaros como *Sarcoptes* spp. o *Demodex* spp., se realice un raspado profundo (Zajac y Conboy 2012; Bowman 2021).

De los ectoparásitos recibidos, la pasante identificó la especie de una garrapata como *Rhipicephalus sanguineus* s.l., la cual fue recolectada de un perro. Como lo indican Taylor y colaboradores (2016), esta garrapata se conoce como “garrapata café del perro”, tiene una distribución mundial y puede transmitir agentes como *Babesia* spp. y *Ehrlichia* spp., además de causar parálisis. En la actualidad, se reconoce la existencia de al menos dos linajes genéticos bajo el nombre de *Rhipicephalus*

sanguineus, conocidos como “linaje templado” y “linaje tropical”. Seron Sanches y colaboradores (2021) trabajaron con garrapatas de ambos linajes, una colonia de linaje tropical proveniente de São Paulo, Brasil y otra de linaje templado proveniente de Rio Grande do Sul, Brasil. Ellos encontraron diferentes patrones en conjuntos de proteínas relacionadas a procesos metabólicos (comparando tejidos de glándulas salivares y de intestino de garrapatas infectadas y no infectadas con *Ehrlichia canis*); determinando que estas diferencias, asociadas con características morfológicas, genéticas, biológicas y de comportamiento ya descritas, apoyan la hipótesis de que estos linajes representan distintas especies.

Las especies de las otras tres garrapatas y de la larva de mosca fueron determinadas por estudiantes de internado junto con la Dra. Ana Jiménez. Las especies identificadas fueron: una *Amblyomma nodosum* (recolectada de un perezoso), dos *Amblyomma ovale* (recolectadas de coyotes) y la larva como L3 de *Dermatobia hominis* (recolectada de un jaguar).

También se examinaron las heces de un *Triatoma dimidiata* (recolectado de en una casa de habitación en Santa Ana) proceso que realizó el Dr. Víctor Montenegro. La pasante observó al microscopio el examen directo de las heces en solución salina; sin embargo, no se observaron tripomastigotos. El examen de heces de los triatomas es útil ya que las formas infestantes (tripomastigotos metacíclicos) del agente causante de la enfermedad de Chagas (que afecta a humanos y perros), *Trypanosoma cruzi*, son eliminadas en las heces del insecto y este puede defecar mientras se alimenta (Bowman 2021).

En cuanto a los hisopados y al raspado oral, provenían de un gallo con un diagnóstico presuntivo de *Trichomonas* spp. En estas muestras no se observó la presencia del protozoario. *T. gallinae* produce lesiones caseosas en el tracto digestivo superior que pueden extenderse a otros tejidos, afectando pollos y pavos, y se cree que las palomas son los hospedadores naturales y los principales portadores de este protozoario (AAAP 2012).

3.1.3 Parásitos Gastrointestinales por especie animal

Con respecto a los parásitos gastrointestinales (PGI) por especie animal, en todas las especies se obtuvieron resultados, excepto en las mascotas no convencionales (un conejo y un jerbo).

En las muestras de pequeños rumiantes (Cuadro 1), se observaron huevos de nematodos y ooquistes de coccidios.

Cuadro 1.

PGI observados en muestras de pequeños rumiantes que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 70)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	38	54.29%
<i>Strongyloides</i> spp.	4	5.71%
Protozoarios		
Coccidios	14	20.00%

En las heces de pequeños rumiantes es común encontrar huevos de strongílidos, los cuales no pueden identificarse fácilmente por género, por lo que si se requiere de un diagnóstico específico es necesario cultivar las etapas presentes en las heces a la etapa infectiva (Bowman 2021).

Con este propósito, se realizaron tres coprocultivos (Cuadro 2) de muestras de ovejas que presentaron altos conteos de huevos del Orden Strongylida (>1000 hpg). El técnico del laboratorio realizó la identificación y conteo de las larvas, y posteriormente la pasante observó las larvas al microscopio.

Cuadro 2.

Larvas identificadas en coprocultivos de ovejas analizados en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

Larvas identificadas	Porcentaje
Coprocultivo 1	
<i>Haemonchus</i> spp.	98%
<i>Oesophagostomum</i> spp.	2%
Coprocultivo 2	
<i>Haemonchus</i> spp.	92%
<i>Oesophagostomum</i> spp.	8%
Coprocultivo 3	
<i>Haemonchus</i> spp.	100%

En Costa Rica, Castro-Arnáez (2019) reporta que, dentro de larvas presentes en la población inicial estudiada por ella, también se encontraron *Haemonchus* spp. y *Oesophagostomum* spp., y como se ha mencionado anteriormente, el primero representa un problema en hatos de pequeños rumiantes debido a la anemia que ocasiona.

En relación con la otra especie de nematodo observada, *Strongyloides papillosus*, aunque algunas veces es considerado como un patógeno de poca preocupación, en especial cuando se detectan bajos conteos de huevos en heces, es capaz de causar enfermedad severa en cabras y ovejas, pudiendo provocar muerte súbita en estos animales (Bowman 2021; Pinn et al. 2021).

Por otro lado, la coccidiosis en ovicaprinus tiene una distribución mundial, y presenta de moderada a alta mortalidad en animales jóvenes. Mihalca (2013) menciona que las infecciones con las especies *Eimeria* spp. pueden ser más severas en corderos que en cabritas.

Dentro de los parásitos observados en aves domésticas (Cuadro 3), se tuvieron nematodos y coccidios.

Cuadro 3.

PGI observados en muestras de aves domésticas que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 60)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Capillaria</i> spp.	5	8.33%
Protozoarios		
Coccidios	14	23.33%

Varias especies de *Capillaria* spp. pueden afectar a las aves gallináceas, limitando su productividad, aunque en industrias avícolas altamente desarrolladas, el daño de estos parásitos ha sido limitado por el manejo que se les da a estos animales

y muchas veces las aves que siguen viéndose afectadas son las de traspatio. En cuanto a la coccidiosis, es una enfermedad de importancia en la producción avícola, afectando principalmente a aves jóvenes, y al no existir inmunidad cruzada entre especies de *Eimeria* spp., la enfermedad puede deberse a diferentes especies (Swayne 2013).

En las muestras de perros (Cuadro 4) hubo presencia de nematodos y protozoarios.

Cuadro 4.

PGI observados en muestras de perros que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 49)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Ancylostomatideos	19	38.78%
Protozoarios		
<i>Giardia duodenalis</i>	4	8.16%

Se observaron huevos de Ancylostomatideos y por medio del examen directo, en dos muestras se observaron quistes de *Giardia duodenalis*, y en las otras dos se realizó el diagnóstico por medio de inmunocromatografía.

En los perros es importante vigilar que los planes de desparasitación se estén cumpliendo, teniendo en cuenta que algunos agentes pueden ser zoonóticos, como *Ancylostoma caninum* (larva migrans cutánea) y *G. duodenalis*, por lo cual se deben

realizar exámenes de heces como parte de los protocolos de medicina preventiva (TroCCAP 2019a).

En las muestras de animales silvestres (Cuadro 5), se observaron diferentes parásitos.

Cuadro 5.

PGI observados en muestras de animales silvestres que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 15)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Ancylostomatideos	3	20.00%
<i>Capillaria</i> spp.	1	6.67%
Protozoarios		
Coccidios	2	13.33%
Acantocéfalo	1	6.67%

En mapaches hubo presencia de Ancylostomatideos, coccidios, *Capillaria* spp. y un acantocéfalo. Se han reportado diferentes especies de ancilostomatideos en estos animales, en donde los estudios realizados destacan el potencial que tienen para infectar múltiples especies animales, incluidos los humanos (Seguel y Gottdenker 2017). En el trabajo de Sánchez-Paniagua (2019), se indica que en heces de mapaches de Costa Rica se identificaron ooquistes de *Eimeria* spp., huevos de *Capillaria procyonis* y huevecillos del acantocéfalo *Macracanthorhynchus ingens*.

En la muestra de zarigüeya, también se observaron huevos de Ancylostomatideos. Berrera-Santos y colaboradores (2021) mencionan que, debido a

su circulación en ambientes urbanos y rurales, las zarigüeyas se consideran reservorios potenciales de agentes infecciosos como *Ancylostoma caninum* para humanos y para animales domésticos.

De igual manera, se observaron Ancylostomatideos en una muestra de coyote. En el estudio realizado por Niehaus y colaboradores (2012), se analizaron heces de coyotes de zonas aledañas al volcán Irazú y se determinó que, entre los nematodos observados, los anquilostomas y estrongílicos tuvieron mayor prevalencia.

Las muestras correspondientes a gatos (Cuadro 6) presentaron huevos de nematodos y cestodos.

Cuadro 6.

PGI observados en muestras de gatos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 14)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Ancylostomatideos	1	7.14%
Cestodo		
<i>Spirometra</i> spp.	1	7.14%

Los anquilostomas infectan félidos domésticos y silvestres, causando enfermedad severa en gatitos, siendo algunas especies zoonóticas como *Ancylostoma braziliense* (larva migrans cutánea), la cual se encuentra presente en Centroamérica (TroCCAP 2019b).

Spirometra spp. afecta a gatos y perros, adquiriendo la infección al ingerir ranas, roedores o pájaros que contienen los plerocercoides; se debe tomar en cuenta que la especie *S. mansonioides* se encuentra distribuida en Norte y Sur América (Zajac y Conboy 2012).

En una muestra de equino (Cuadro 7), se observaron huevos del Orden Strongylida.

Cuadro 7.

PGI observados en muestras de equinos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 14)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	1	7.14%

Bowman (2021) menciona que los estromgílicos tienen una distribución cosmopolita y los caballos naturalmente infectados tienden a albergar una docena o más de especies simultáneamente, por lo que si es necesario identificarlas se debe realizar un cultivo fecal.

En los análisis realizados a las heces de cerdos (Cuadro 8), se observaron coccidios y nematodos.

Cuadro 8.

PGI observados en muestras de cerdos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 14)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Ascaris suum</i>	1	7.14%
Protozoarios		
Coccidios	13	92.86%

Estos animales pueden ser hospedadores de ocho o más especies de *Eimeria* spp.; sin embargo, esta coccidiosis no suele ser un problema y la mortalidad es rara; por el contrario, *Cystoisospora suis*, causa enfermedad en neonatos, presentado una morbilidad alta y una mortalidad moderada (Mihalca 2013; Bowman 2021).

El nematodo *Ascaris suum*, como se ha mencionado, causa hepatitis intersticial en los cerdos y se asocia también con neumonías en estos animales, debido a la migración de las larvas a través del hígado y de los pulmones (Zajac y Conboy 2012; Taylor et al. 2016). En el hígado, debido a esta migración, causa lo que se conoce como “manchas de leche”, siendo un criterio de decomiso en las plantas de cosecha de Costa Rica (DIPOA 2020).

En las muestras de bovinos (Cuadro 9), se observaron huevos pertenecientes al Orden Strongylida.

Cuadro 9.

PGI observados en muestras de bovinos que fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022.

PGI	Muestras de heces (n = 10)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	8	80.00%

Similar a lo mencionado para pequeños rumiantes, los bovinos pueden tener una variedad de especies de estrongílicos. No siempre es necesario identificar la especie porque su tratamiento y control generalmente se dirige al grupo de nematodos y no a una especie en específico, pero si la identificación es necesaria, se debe realizar el cultivo de los huevos en las heces para determinar el género de las larvas en su tercer estadio (Zajac y Conboy 2012).

3.2 Giras del Laboratorio de Parasitología, EMV

Se asistió a una gira a San Carlos, Alajuela, en donde se recolectaron y analizaron 44 muestras de heces de bovinos, de fincas lecheras y de cría, por medio de las técnicas de Sheather, sedimentación y McMaster.

Los resultados obtenidos (Cuadro 10) son similares a los reportados en estudios realizados en la zona de San Carlos.

Cuadro 10.

PGI en bovinos cuyas muestras se analizaron durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022

PGI	Animales analizados (n = 44)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	31	70%
Protozoarios		
Coccidios	10	23%
<i>Buxtonella sulcata</i>	1	2%

Como reportan Jiménez y colaboradores (2007), los nematodos y protozoarios detectados más prevalentes en fincas de ganado lechero y de carne fueron coccidios (*Eimeria* spp.), del Orden Strongylida y *Buxtonella sulcata*. Esto también se refleja en el trabajo de Vargas (2020), en donde indica que, para fincas de bovinos de cría en Costa Rica, los parásitos prevalentes correspondieron al Orden Strongylida y coccidios, seguido por *B. sulcata*.

Se calculó la cantidad de huevos por gramos de heces (hpg) en 18 muestras positivas a huevos del Orden Strongylida (Cuadro 11).

Cuadro 11.

Cuantificación de hpg en las muestras de heces analizadas con la técnica de McMaster durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022

hpg	Cantidad de muestras	Porcentaje
< 50	13	72%
100	3	17%
150	1	6%
200	1	6%
Total	18	100%

En el caso de estos animales, la carga parasitaria fue baja, siendo menor a 500 hpg, por lo cual no se considera obligatorio desparasitar; por otro lado, si fuera igual o mayor a este valor, no necesariamente indica que el animal presenta una enfermedad parasitaria clínica, por lo que la recomendación de desparasitar puede depender de la presentación de síntomas, ya que animales sanos y con buena nutrición pueden compensar una carga parasitaria alta (Bowman 2021).

También se recolectaron garrapatas, las cuales se identificaron como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Esta especie se encuentra ampliamente distribuida en diferentes zonas ganaderas del territorio nacional, como señalan Álvarez y colaboradores (2003), debido a condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de estas poblaciones, siendo mínimas las variaciones de temperatura y de humedad relativa necesarias.

Se observó una demostración de la prueba de inmersión de adultas (utilizando las garrapatas recolectadas), en donde se tuvo dos grupos de diez garrapatas cada uno: el primero tratado con el producto acaricida Singap® (Amitraz 20.8%) y un

segundo grupo control tratado con agua. Después de siete días de incubación, fue reportado que en el grupo control, nueve de diez garrapatas ovopositaron (Figura 3).



Figura 3.

Grupo de garrapatas control en la prueba de inmersión de adultas, recolectadas durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022.

En el grupo tratado con el acaricida, seis de diez garrapatas ovopositaron (Figura 4).

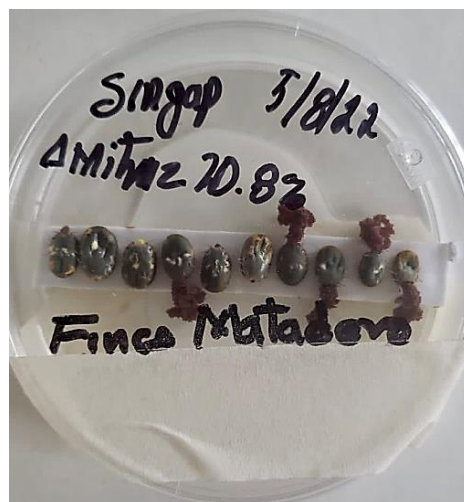


Figura 4.

Grupo de garrapatas tratadas con Singap® en la prueba de inmersión de adultas, recolectadas durante la gira a San Carlos, Alajuela, durante el 4 y 5 de agosto de 2022.

Las garrapatas tratadas que ovipositan se consideran resistentes, mientras que las que no ovipositan se consideran susceptibles, por lo cual de acuerdo a la fórmula indicada por la FAO (1999): (cantidad de garrapatas tratadas que ovipositan / cantidad de garrapatas control que ovipositan) x 100 = (6/9) x 100, existe un 66.67% de resistencia al producto. Esto concuerda con lo indicado por Álvarez y Hernández (2010), en su estudio llevado a cabo en 2009, donde se reportó en el país la resistencia a las amidinas, siendo el Amitraz en ese momento el producto más utilizado para el control de garrapatas.

3.3 Funcionamiento y gestión del Laboratorio de Parasitología, EMV

Como ha sido indicado, se participó activamente en las tareas diarias del laboratorio, en los servicios que se brindan a la EMV y al público en general. Al formar

parte de las tareas cotidianas del laboratorio se reforzaron las habilidades para el correcto manejo de muestras, se mejoraron las destrezas para ejecutar las técnicas de laboratorio y se desarrollaron las competencias necesarias para trabajar en un laboratorio diagnóstico en parasitología veterinaria.

El laboratorio al también llevar a cabo actividades de docencia, se tuvo la oportunidad de colaborar en esta área. Se prepararon materiales para ser utilizados por los estudiantes en las prácticas, además, se realizó la recolección e identificación de moscas (Cuadro 12) con el fin de contar con especímenes para su estudio en el curso.

Cuadro 12.

Moscas identificadas en el Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, del 6 de junio al 1 de septiembre de 2022

Especie	Cantidad de muestras	Porcentaje
<i>Musca domestica</i>	13	56.52%
<i>Stomoxys calcitrans</i>	10	43.47%
Total	23	100.00%

Según menciona Bowman (2021), las especies *Musca* spp., como la mosca doméstica, pueden transportar organismos patógenos a la comida, cavidades corporales y heridas de los animales, como sucede con el nematodo *Habronema muscae*, el cual es un parásito gastrointestinal de los caballos y cuyas larvas invaden la piel del animal.

En el caso de *Stomoxys calcitrans*, conocida como mosca del establo, es considerada una plaga de la ganadería. Los adultos son hematófagos, y al alimentarse de animales como los bovinos, pueden provocar una disminución en su rendimiento (Solórzano et al. 2011).

3.4 Casuística del laboratorio diagnóstico, Instituto de Parasitología, TiHo

En el laboratorio diagnóstico del Instituto de Parasitología, TiHo, se asistió en la realización de los métodos de diagnóstico (flotación-sedimentación y McMaster) y se observaron al microscopio 290 muestras de heces.

3.4.1 Especies animales

Del total de muestras de heces, 107 (36.90%) correspondieron a muestras de perros, 94 (32.41%) a caballos, 28 (9.66%) a mascotas no convencionales (chinchillas, cobayas, conejos, erizos, ratas, ratones), 20 (6.90%) a pequeños rumiantes, 17 (5.86%) a gatos, diez (3.45%) a aves de corral, nueve (3.10%) a bovinos y cinco (1.72%) a cerdos (Figura 5).

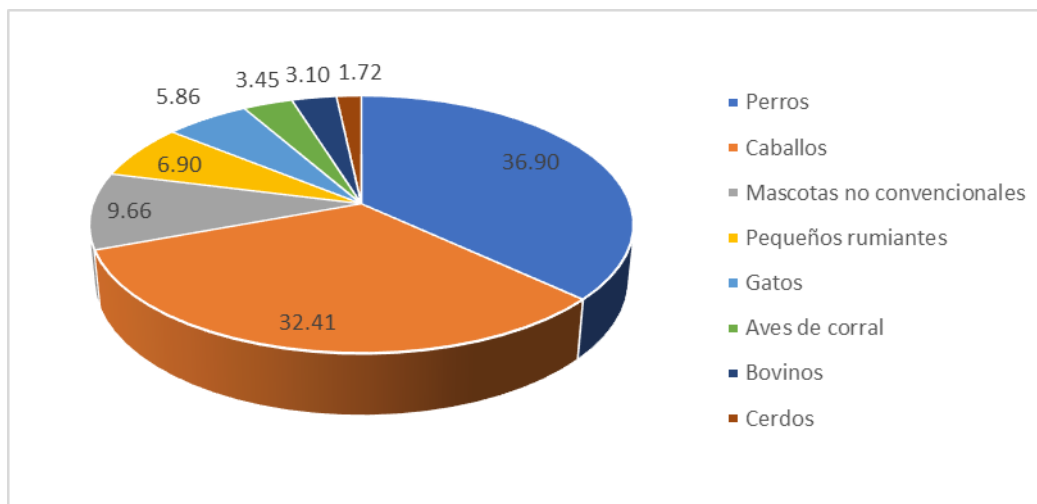


Figura 5.

Porcentaje de muestras por especie examinadas al microscopio durante la pasantía en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.

En Alemania, en el año 2021 se reportó que el 47% de los hogares tienen al menos una mascota. Los gatos se encuentran en el 26% de los hogares, los perros en el 21% y los animales exóticos en el 5% (IVH 2021). A pesar de que los gatos se encuentran en mayor número en los hogares con mascotas, en este caso la mayoría de muestras remitidas al laboratorio provenientes de animales de compañía, pertenecieron a perros y a mascotas no convencionales lo cual podría deberse a que los gatos no son llevados a consulta de manera tan frecuente, debido a la percepción que tienen sus propietarios en cuanto al estrés que sus animales y ellos mismos sienten durante una consulta veterinaria (Karn-Buehler y Kuhne 2021).

Las muestras de caballos representan el segundo lugar en cuanto a cantidad de muestras. La población estimada de equinos domésticos en Alemania es de 1.1

millones de caballos y ponis, en donde en su mayoría se usan para deporte y recreación (Equestrian Globe 2022). En este país, así como otros países europeos, existen leyes que regulan el uso de desparasitantes para equinos, los cuales se pueden utilizar bajo prescripción del médico veterinario en base a conteo de huevos por gramo de heces (Loving 2018).

En cuanto a animales productivos, se analizaron muestras de pequeños rumiantes, aves de corral (codornices, gansos, patos, pavos, pollos), bovinos y cerdos. De manera similar a los caballos, el uso de desparasitantes se encuentra regulado y requieren de prescripción médica, por lo cual se limita su uso a los animales que presentan altos conteos de huevos por gramo de heces, esto para reducir la posibilidad de un uso inadecuado que pueda generar resistencia (Weide-parasiten 2018).

3.4.2 Parásitos Gastrointestinales por especie animal

Respecto a los PGI observados por especie animal, en todas las especies se observaron huevos u ooquistes, excepto en los cerdos.

En los perros (Cuadro 13), se presentaron casos de *Giardia* spp., de coccidios y de nematodos de diferentes especies.

Cuadro 13.

PGI observados en muestras de perros que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 107)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Toxacaris leonina</i>	2	1.87%
<i>Ancylostoma</i> spp.	1	0.93%
<i>Toxocara</i> spp.	1	0.93%
<i>Taenia</i> spp.	1	0.93%
<i>Angiostrongylus vasorum</i>	1	0.93%
Protozoarios		
<i>Giardia</i> spp.	7	6.54%
Coccidios	3	2.80%

El Consejo Científico Europeo de Parásitos de Animales de Compañía, reporta que en el continente europeo la prevalencia general de *Giardia* spp. está entre el tres y el siete por ciento, y que los ooquistes de coccidios (especies *Cystoisospora* spp.) se encuentran tanto en heces de perros subclínicos y como de perros enfermos (ESCAAP 2018).

También, entre los más parásitos más prevalentes y zoonóticos en perros europeos, se encuentran los ascaridios (*Toxacaris leonina* y *Toxocara* spp.), *Angiostrongylus vasorum* y las tenias. En cuanto a los ancilostomatideos, *Ancylostoma caninum* se encuentra principalmente en el sur de Europa, por lo cual no es común en Alemania, sin embargo, se debe considerar en casos de perros con anemia severa (ESCAAP, 2021).

En las muestras de caballos (Cuadro 14), se observaron nematodos.

Cuadro 14.

PGI observados en muestras de caballos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 94)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	15	15.95%
<i>Parascaris</i> spp.	2	2.13%
<i>Oxyuris equi</i>	1	1.06%

Dentro de los pertenecientes al Orden Strongylida, los parásitos intestinales más relevantes en equinos de Europa son las especies del grupo “grandes estróngilos”: *Strongylus edentatus*, *S. equinus* y *S. vulgaris*. Por otro lado, las dos especies *Parascaris* spp. con mayor prevalencia en las granjas equinas europeas corresponden a *P. equorum* y *P. univalens*; sin embargo, no se pueden distinguir por su morfología. También, *Oxyuris equi* ha sido reportado como un parásito común en Europa, aunque no es considerado una amenaza para la salud de estos animales a menos de que se traten de infecciones graves (ESCCAP 2019).

Con respecto a las muestras de mascotas no convencionales (Cuadro 15), hubo presencia de parásitos en muestras de conejos y de erizos.

Cuadro 15.

PGI observados en muestras de mascotas no convencionales que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 28)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Graphidium strigosum</i>	2	7.14%
<i>Capillaria</i> spp.	2	7.14%
Protozoarios		
Coccidios	6	21.43%

En conejos se encontraron coccidios y *Graphidium strigosum*. Varias especies de *Eimeria* spp. pueden infectar conejos, siendo probable en lugares donde se mantiene grandes cantidades de animales en estrecha proximidad; en cuanto a *G. strigosum*, es uno de los nematodos gastrointestinales más comunes en conejos salvajes pero raros en conejos domésticos (ESCCAP 2017).

También se observaron coccidios y *Capillaria* spp. en erizos. En Alemania, los erizos se han convertido en una mascota popular, entre ellos el erizo europeo de pecho marrón (*Erinaceus europaeus*) y el erizo europeo de pecho blanco (*Erinaceus roumanicus*), en los cuales los coccidios son el parásito más frecuentemente observado, teniendo relevancia *Isospora erinacei* e *Isospora rastagaievae*; en cuanto a *Capillaria* spp., estos animales puede ser afectados por *C. erinacei* y *C. ovoreticulata*, los cuales utilizan de hospedador intermediario a las lombrices de tierra que son luego ingeridas por los erizos (Exomed 2022).

En cuanto a las muestras de pequeños rumiantes (Cuadro 16), se observaron coccidios, nematodos y trematodos.

Cuadro 16.

PGI observados en muestras de pequeños rumiantes que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.

PGI	Animales analizados (n = 20)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	7	35%
<i>Strongyloides</i> spp.	1	5%
Trematodos		
<i>Fasciola</i> spp.	1	5%
Protozoarios		
Coccidios	8	40%

Los ooquistes de las especies *Eimeria* spp. son frecuentemente encontrados en las heces de animales sanos, pero son capaces de causar enfermedad seria en ovejas y cabras, por lo que el diagnóstico de coccidiosis se basa en la identificación de los ooquistes, de la historia y de los signos clínicos (Bowman 2021).

Los nematodos gastrointestinales del Orden Strongylida tienen gran importancia en los pequeños rumiantes, como se mencionó anteriormente, *Haemonchus contortus*, siendo responsable de enfermedad en estos animales a nivel mundial, causando anemia, pérdida de peso y bajo rendimiento (Dilrukshi Herath et al. 2021).

Otro nematodo común, que afecta en especial a ovicaprinos jóvenes causando diarrea y malnutrición, es *Strongyloides papillosus*, siendo reportado en diferentes grupos etarios, sistemas de manejo, áreas y climas (Thamsborg et al. 2016).

En relación con los trematodos, *Fasciola hepatica* es un trematodo cuya distribución y ocurrencia es amplia en los hatos de pequeños rumiantes de Alemania, causando enfermedad clínica severa y pérdidas en la producción, ya que los animales disminuyen su consumo, presentan anemia y hasta muerte súbita (Alstedt et al. 2022).

En las muestras de gatos (Cuadro 17), se observaron nematodos y coccidios.

Cuadro 17.

PGI observados en muestras de gatos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 17)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Toxocara</i> spp.	1	5.88%
Protozoarios		
Coccidios	1	5.88%

Toxocara spp. representa un riesgo zoonótico, por lo cual en Europa se recomienda el examen fecal (y tratamiento según los hallazgos) cuatro veces al año para gatos domésticos que salen de casa (ESCCAP 2021).

Las especies de *Cystoisospora* spp. que infectan gatos corresponden a *C. felis* y *C. rivolta*, afectando en su mayoría a gatitos menores a cuatro meses de edad (ESCCAP 2018).

Se observaron nematodos y coccidios en las muestras de aves de corral (Cuadro 18).

Cuadro 18.

PGI observados en muestras de aves de corral que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 10)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
<i>Ascaridia</i> spp.	3	30%
<i>Capillaria</i> spp.	2	20%
Protozoarios		
Coccidios	1	10%

Los endoparásitos más relevantes de las aves corresponden a los ascaridios, como *Ascaridia galli* en gallinas y pavos de engorde, y las especies *Capillaria* spp., como *C. annulata* y *C. contorta* en aves comerciales; por otro lado, la coccidiosis aviar es una enfermedad común, siendo causada por las especies *Eimeria* spp., en donde la morbilidad y mortalidad pueden ser altas (AAAP 2012).

En cuanto a las muestras de bovinos (Cuadro 19), también se observaron huevos del Orden Strongylida y coccidios.

Cuadro 19.

PGI observados en muestras de bovinos que fueron analizadas en el Instituto de Parasitología, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022

PGI	Animales analizados (n = 9)	
	Positivos	Porcentaje
Nematodos		
Strongylida	1	11.11%
Protozoarios		
Coccidios	1	11.11%

Como ya se ha mencionado, varias especies del Orden Strongylida pueden afectar a los bovinos. Y, en el caso de *Eimeria* spp., se ha reportado presencia de *E. bovis*, *E. zuernii* en hatos lecheros y de carne en Alemania, siendo la causa de coccidiosis clínica en terneros y animales jóvenes (Bangoura et al. 2011).

3.4.3 Pruebas moleculares

Se tuvo la oportunidad de observar cómo se realizan pruebas moleculares en el laboratorio de diagnóstico.

Los técnicos de laboratorio extrajeron ADN de huevos de tenia colectados a partir de heces de un perro y posteriormente ejecutaron el protocolo de PCR para determinar *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus* y *Taenia saginata*. El resultado indicó que los huevos eran de *E. granulosus*.

La identificación por medio de pruebas moleculares es necesaria para la diferenciación morfológica de los huevos de estas especies y por tratarse de especies que pueden conllevar un potencial riesgo zoonótico (ESCCAP 2021).

También se extrajo ADN y ARN de una garrapata recolectada de un perro. Se utilizó el ADN para la ejecución del protocolo de PCR para determinar *Babesia* spp., *Borrelia* spp. y el ARN para determinar ETG. En este caso, el resultado fue negativo para los tres agentes.

Como lo indican Liberska y colaboradores (2021), las especies *Babesia* spp. se encuentran distribuidas ampliamente en Europa, y son transmitidas por las garrapatas *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus* s.l. e *Ixodes ricinus*. En cuanto a la babesiosis canina, mencionan que es una enfermedad emergente en este continente y que la gravedad de la enfermedad depende de la especie que infecta al perro, considerándose a *D. reticulatus* como vector primario de *B. canis*.

Borrelia burgdorferi s.l., es el agente causal de la borreliosis de Lyme que afecta a humanos y perros, ocurre en el hemisferio norte y es transmitida por garrapatas del complejo *Ixodes ricinus*. Con relación al virus de la ETG, los casos ocurren principalmente en humanos y raramente en animales domésticos, aunque los perros pueden desarrollar signos neurológicos severos, siendo vectores las garrapatas *Ixodes* spp. y *D. reticulatus* (Springer et al. 2021).

3.5 Proyectos de investigación del Instituto de Parasitología, TiHo

Se participó en varios proyectos de investigación: disección de roedores, análisis de heces de bovinos con la técnica Flotac® y tres estudios con garrapatas.

3.5.1 Disección y toma de muestras de roedores

Se diseccionó y tomó muestras de 165 roedores, de aproximadamente 3000 ejemplares. Las especies diseccionadas fueron: *Myodes glareolus* (topillo rojo), *Apodemus flavicollis* (ratón leonado), *Mus musculus* (ratón casero), *Apodemus agrarius* (ratón listado), *Microtus agrestis* (topillo agreste) y *Apodemus sylvaticus* (ratón de campo) y musaraña.

Se tomaron muestras de órganos (orejas, piel, bazo, tracto gastrointestinal, cerebro), fetos, heces, fluidos de la cavidad torácica y ectoparásitos (garrapatas y pulgas), las cuales se utilizarán para detectar *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. por medio de PCR, con el propósito de realizar investigaciones más amplias que las que se han hecho anteriormente en Europa.

En Noruega y Lituania se realizó un estudio para determinar el papel que tienen las garrapatas como vectores de *Borrelia* spp. y los pequeños roedores como reservorios de esta bacteria. Paulauskas y colaboradores (2008), concluyeron que las garrapatas *Ixodes ricinus* de bosques caducifolios y mixtos tenían una mayor presencia de *B. burgdorferi* s.s., por lo cual estas áreas presentan mayor riesgo para contraer borreliosis. Además, determinaron que los roedores de las especies *M. glareolus*, *A. flavicollis* y *A. sylvaticus* representaban reservorios zoonóticos de *B. afzelii*, también causante de la enfermedad de Lyme.

3.5.2 Análisis de muestras con la técnica FLOTAC®

En conjunto con la estudiante de doctorado a cargo del proyecto, se analizaron muestras de heces de bovinos, utilizando el dispositivo FLOTAC® (Figura 6). En estas muestras se observaron huevos del Orden Strongylida, *Trichuris* spp., *Moniezia* spp. y ooquistes de coccidios. Los datos de los conteos de huevos y ooquistes observados no se mencionan en este informe, al pertenecer a la persona encargada del estudio.



Figura 6.

Dispositivos FLOTAC® utilizados para analizar muestras de bovinos, en el Instituto de Parasitología, TiHo Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.

Como explican Cringoli y colaboradores (2010), la técnica FLOTAC® se inspiró en otras técnicas basadas en la flotación, siendo utilizada para la cuantificación de elementos parasitarios (huevos, larvas, ooquistes o quistes) en mayores alícuotas fecales (hasta un gramo de heces). Por esta razón, la sensibilidad de la prueba es

mayor con respecto a otras, sin embargo, también se debe tomar en cuenta la solución de flotación utilizada. Los investigadores reportaron que, en heces frescas de bovino, utilizando una solución de sulfato de zinc, para detectar huevos del Orden Strongylida, huevos de *Moniezia* spp. y ooquistes de *Eimeria* spp. la prueba era eficiente.

3.5.3 Estudios con garrapatas

Se colaboró en varios proyectos relacionados al estudio de garrapatas y enfermedades transmitidas por ellas.

Se aprendió la técnica de extracción de ADN (protocolo NucleoSpin® 96 Genomic DNA from Blood), la cual se utilizó en dos de los proyectos.

Se extrajo ADN de 384 garrapatas de la especie *Ixodes ricinus*, las cuales se recolectaron de perros y gatos. Este ADN será utilizado para determinar *Borrelia* spp. y *Anaplasma* spp. por medio de PCR.

Ixodes ricinus es vector de *Anaplasma phagocytophilum*, que en humanos, perros y caballos provoca anaplasmosis granulocítica y en rumiantes domésticos causa fiebre transmitida por garrapatas (“tick-borne fever”). Esta especie de garrapata también es capaz de transmitir *B. burgdorferi* s.l., que puede afectar a humanos y a perros (Springer et al. 2021).

También se trabajó con 1144 garrapatas *Ixodes* spp. ninfas y hembras adultas recolectadas de animales silvestres (mapaches, zorros, jabalíes, ciervos). Para cada una se determinó el largo del idiosoma, el ancho del escudo y la distancia entre la coxa IV (Figura 7). Después, se utilizó el mismo protocolo para extraer su ADN. Las dimensiones serán utilizadas para calcular el tiempo de alimentación que las

garrapatas tuvieron sobre su hospedador y el ADN para determinar *Borrelia spp.* por medio de PCR.



Figura 7.

Medición del largo del idiosoma y ancho del escudo en una I. ricinus adulta, realizada en el Instituto de Parasitología, TiHo Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania, del 10 de febrero al 25 de mayo de 2022.

Además, se realizó la diferenciación de 82 garrapatas obtenidas de vacas lecheras, para determinar la especie y si se trataban de ninfas, machos o hembras. Todas se identificaron como *I. ricinus*. De igual manera, se midieron sus dimensiones para posteriormente calcular el tiempo de alimentación.

Según explican Gray y colaboradores (2005), se puede relacionar el grado en que una garrapata está repleta a la duración de su alimentación y al riesgo de transmisión de enfermedad al hospedador. Este estudio indica que muchos patógenos

transmitidos por garrapatas no se transmiten al hospedador inmediatamente en el momento en que inicia la alimentación, porque requieren un periodo de tiempo para el desarrollo o migración antes de que ocurra la transmisión, por ejemplo, *B. burgdorferi* s.s. requiere aproximadamente 48 horas para la transmisión eficiente por *I. scapularis* ninfas y adultas.

4. CONCLUSIONES

1. Se reforzaron las habilidades requeridas, en cuanto a la colecta adecuada y manejo correcto de diferentes tipos de muestras parasitológicas, como heces, sangre, piel y ectoparásitos.
2. Se mejoraron las destrezas en la elección de la técnica de laboratorio idónea de acuerdo con el tipo de muestra recibida y la especie animal correspondiente, al realizar el diagnóstico de agentes parasitarios según cada caso.
3. Se desarrollaron las habilidades necesarias para poder realizar la colecta de muestras y el análisis parasitológico de estas por medio de equipos y materiales disponibles a nivel de campo, al participar de giras llevadas a cabo por el Laboratorio de Parasitología, EMV.
4. Se obtuvieron las competencias necesarias para la gestión eficiente de un laboratorio de parasitología veterinaria al participar en las tareas cotidianas de funcionamiento y organización del Laboratorio de Parasitología, EMV.

5. RECOMENDACIONES

1. Al Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria UNA, promover los servicios brindados fuera de la Escuela de Medicina Veterinaria, para que estos sean conocidos por clínicas veterinarias del área y público en general, por medio del uso de las redes sociales que permitan ampliar el alcance de esta información.
2. A los estudiantes de medicina veterinaria, buscar la oportunidad de realizar pasantías dentro y fuera del país, para adquirir habilidades y destrezas prácticas, tener una experiencia real de trabajo y conocer profesionales de los cuales se pueda aprender.
3. A los médicos veterinarios, continuar estudiando y capacitándose en el área de interés para mantenerse actualizados y ser competitivos profesionalmente, de manera que puedan brindar servicios de mejor calidad a los pacientes.
4. A los estudiantes y médicos veterinarios, hacer el compromiso de informar y orientar a los propietarios de animales domésticos en cuanto a las mejores prácticas recomendadas para la prevención y control de parásitos, teniendo presente tanto la salud humana como animal.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alstedt U, Voigt K, Jäger MC, Knubben-Schweizer G, Zablotski Y, Strube C, Wenzel C. 2022. Rumen and liver fluke infections in sheep and goats in Northern and Southern Germany. *Animals*. [Internet]. [citado el 1 de setiembre de 2022]; 12(7). Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/7/876/htm>
- Álvarez VM. 2003. Taxonomía de garrapatas. Costa Rica: Dirección de Salud Animal, Ministerio de Agricultura y Ganadería. 32 p.
- Álvarez V, Bonilla R, Chacón I. 2003. Frecuencia relativa de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos (*Bos taurus* y *Bos indicus*) en ocho zonas ecológicas de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* [citado el 24 de agosto de 2021]; 51(2): 427-434. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/15796/15160>
- Álvarez V, Hernández V. 2010. Diagnóstico de resistencia a organofosforados, piretroides sintéticos, amidinas e ivermectinas en la garrapata *Rhipicephalus microplus* en fincas de productores de leche de Costa Rica. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias*. [citado el 24 de Agosto de 2021]; 9 (2). Disponible en: <http://www.senasa.go.cr/informacion/centro-de-informacion/informacion/material-educativo/investigaciones/236-articulo-diagnostico-de-resistencia-a-op-ps-am-e-iv-en-la-garrapata-r-microplus-en-fincas-de-leche-de-c-r/file>
- American Association of Avian Pathologist (AAAP). 2012. Avian disease manual, seventh edition. Estados Unidos: OmniPress. 300 p.
- Analytik Jena. 2018. blackPREP Tick DNA / RNA Kit. Instructions for Use. Alemania: Analytik Jena AG. 20 p.

Andrade L. 2020. Desarrollo de una técnica inmunoenzimática para el diagnóstico de anticuerpos contra *Paragonimus mexicanus*. Heredia, C.R.: Tesis (*Magister Scientae*).

Universidad Nacional.

Arsenopoulos KV, Fthenakis GC, Katsarou EI, Papadopoulos E. 2021. Haemonchosis:

A challenging parasitic infection of sheeps and goats. *Animals*. [Internet]. [citado el 15 de setiembre de 2022]; 11(2): 363. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/2/363/htm>

Bangoura B, Mundt HC, Schmäschke R, Westphal B, Dauschies A. 2011. Prevalence

of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in german cattle herds and factors influencing oocyst excretion. *Parasitol Res*. [Internet]. [citado el 1 de setiembre de 2022]; 109:

S129-S138.

Disponible

en:

https://www.researchgate.net/publication/51540158_Prevalence_of_Eimeria_bovis_and_Eimeria_zuernii_in_German_cattle_herds_and_factors_influencing_oocyst_excretion

Barros-Battesi DM, Arzua M, Bechara GH. 2006. Carrapatos de importância médico-veterinaria da região neotropical. Brasil: Instituto Butantan. 223 p.

Becker AC, Kraemer A, Epe C, Strube C. 2016. Sensitivity and efficiency of selected

coproscopical methods – sedimentation, combined zinc sulfate sedimentation-flotation, and McMaster method. *Parasitol Res*. [Internet]. [citado el 24 de agosto

de 2021];

115:

2581-2587.

Disponible

en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-016-5003-8>

Bezerra-Santos M, Nascimento Ramos RA, Kanadani Campos A, Dantas-Torres F,

Otranto D. 2021. *Didelphis* spp. opossums and their parasites in the Americas: A

- One Health perspective. *Parasitol Res.* . [Internet]. [citado el 5 de setiembre de 2022]; 120(12): 4091–4111. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8599228/> doi: 10.1007/s00436-021-07072-4
- Bowman DD. 2021. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. St. Louis (MO): Elsevier. 518 p.
- Bush AO, Fernández JC, Esch GW, Seed JR. 2001. *Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites*. Reino Unido: Cambridge University Press. 566 p.
- Castro-Arnáez I. 2019. *Práctica dirigida: "Diagnóstico de campo y laboratorial de parasitosis gastrointestinales en ovinos de Costa Rica"* Heredia, C.R.: Práctica dirigida (Licenciatura). Universidad Nacional.
- Castro-Arnáez I, Montenegro VM, Vargas-Leitón B, Álvarez-Calderón V, Soto-Barrientos N. 2021. Anthelmintic resistance in commercial sheep farms in Costa Rica. *Vet Parasitol.:Reg. Stud. Rep.* [Internet]. [citado el 18 de setiembre de 2021]; 23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405939020302872> doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100506
- Coles GC. 2001. The future of veterinary parasitology. *Vet Parasitol.* [Internet]. [citado el 9 de setiembre de 2021]; 98 (1-3): 31-39. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401701004216> doi:10.1016/s0304-4017(01)00421-6
- College of Veterinary Medicine [Internet]. 2021. *Animal Health Diagnostic Center: Parasitology*. Ithaca (NY): Cornell University. [citado el 7 de setiembre de 2021].

Disponible en: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/testing/protocols/parasitology>

Comisión México-Americana para la Erradicación del Gusano Barrenador del Ganado.

2010. Manual de identificación de Gusano Barrenador del Ganado *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) Díptera: Calliphoridae y su diferenciación de otras especies causantes de miasis. México: COMEXA. 95 p.

Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J. 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols*. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2022]; 5: 503-515. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nprot.2009.235>

Deplazes P, Eckert J, Mathis A, von Samson-Himmelsstjerna G, Zahner H. 2016. *Parasitology in Veterinary Medicine*. Países Bajos: Wageningen Academic Publishers. 653 p.

Dilrukshi Herath HMP, Taki AC, Sleebs BE, Hofmann A, Nguyen N, Preston S, Davis RA, Jabbar A, Gasser RB. 2021. Chapter Four - Advances in the discovery and development of anthelmintics by harnessing natural product scaffolds. *Adv. Parasitol.* [Internet]. [citado el 1 de setiembre de 2022]; 111: 203-251. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065308X20301093>

Dirección de Inocuidad de Productos de Origen Animal (DIPOA) [Internet]. 2020. Descripción de los procesos patológicos y criterios técnicos para el decomiso en porcinos. Costa Rica: Servicio Nacional de Salud Animal. [citado el 5 de setiembre de 2022]. Disponible en: <http://www.senasa.go.cr/informacion/centro->

de-informacion/informacion/sgc/dipoa/dipoa-pg-003-inspeccion-ante-y-post-mortem-ovinos/3657-dipoa-pg-003-in-001-p-v02-final-final/file

Dvorin JD, editor. 2022. One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. PLoS Pathog. [Internet]. [citado el 25 de setiembre de 2022]. 18(6): e1010537. Disponible en:

<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1010537>

Elsheikha HM. 2014. The future of parasitology: challenges and opportunities. Front. Vet. Sci. [Internet]. [citado el 9 de setiembre de 2021]; 1:25. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2014.00025/full>

Equestrian Globe [Internet]. 2022. The german equestrian federation (FN) – A worldwide unique organization. Alemania: Equestrian Globe GmbH. [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en: https://www.equestrian-globe.com/en/1_2_0/partner-of-fn/

Escuela de Medicina Veterinaria [Internet]. 2021a. Reseña Histórica. Heredia (Costa Rica): Universidad Nacional. [citado el 18 de setiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.medvet.una.ac.cr/index.php/acerca-de/resena-historica>

Escuela de Medicina Veterinaria [Internet]. 2021b. Laboratorio de Parasitología. Heredia (Costa Rica): Universidad Nacional. [citado el 7 de setiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.medvet.una.ac.cr/index.php/laboratorio-de-parasitologia>

Estrada-Peña A, Mihalca AD, Petney TN. 2017. Ticks of Europe and North Africa. A guide to species identification. Suiza: Springer. 404 p.

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) [Internet]. 2017.

Control parasites and fungal infections in small pet mammals. Reino Unido: ESCCAP. Disponible en:

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) [Internet]. 2018.

Control of intestinal protozoa in dogs and cats. Reino Unido: ESCCAP. Disponible en:

https://www.esccap.org/uploads/docs/5hk9fztt_0701_ESCCAP_Guideline_GL6_v8_1p.pdf

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) [Internet]. 2019.

A guide to treatment and control of equine gastrointestinal parasite infections.

Reino Unido: ESCCAP. Disponible en:

https://www.esccap.org/uploads/docs/kvhqnc12_0796_ESCCAP_Guideline_GL8_v9_1p.pdf

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) [Internet]. 2021.

Worm control in dogs and cats. Reino Unido: ESCCAP. Disponible en:

https://www.esccap.org/uploads/docs/oc1bt50t_0778_ESCCAP_GL1_v15_1p.pdf

Exomed [Internet]. 2022. Die wichtigsten Endoparasiten von Igel. Marburg (Alemania):

Exomed GmbH. [citado el 31 de agosto de 2022]. Disponible en:

<https://exomed.de/home/Information?id=68>

Facultad de Microbiología [Internet]. 2021a. Información General. San José (Costa

Rica): Universidad de Costa Rica. [citado el 18 de setiembre de 2021]. Disponible

en: <http://micro.ucr.ac.cr/informacion-general>

- Facultad de Microbiología [Internet]. 2021b. Parasitología. San José (Costa Rica): Universidad de Costa Rica. [citado el 18 de setiembre de 2021]. Disponible en: <http://www.micro.ucr.ac.cr/areas-de-trabajo/parasitologia>
- Food and Agriculture Organization of United Nation (FAO). 1999. Standardization of diagnostic test. Sub-group 2. Adult Immersion test (AIT). Juiz de Fora (Brazil): The FAO working group and FAO/Industry contact group on parasite resistance. p. 8-12.
- Foreyt WJ. 2001. Veterinary Parasitology Reference Manual. Iowa: Blackwell Publishing. 235 p.
- Gray J, Stanek G, Kundi M, Kocianova E. 2005. Dimensions of engorging *Ixodes ricinus* as a measure of feeding duration. Int. J. Med. Microbiol. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2022]; 295 (8): 567-572. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S143842210500113X>
- Gutiérrez JM [Internet]. 2020. El asombroso enlace de medicina y biología. Una aventura futurista desde el pasado. Costa Rica: Semanario Universidad; [citado el 18 de setiembre de 2021]. Disponible en: <https://semanariouniversidad.com/suplementos/el-asombroso-enlace-de-medicina-y-biologia/>
- Hendrix CM, Robinson E. 2012. Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians. St. Louis (MO): Elsevier. 392 p.
- Hiepe H, Lucius R, Gottstein B. 2011. Parasitología General. Con principios de inmunología, diagnóstico y lucha antiparasitaria. España: Acribia. 600 p.

- IVH [Internet]. 2021. The german pet market 2021. Alemania: Industrieverband Heimtierbedarf; [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en: https://www.ivh-online.de/fileadmin/ivh/user_upload/Daten_und_Fakten/IVH_ZZF_The_German_Pet_Market_2021.pdf
- Jacobs D, Fox M, Gibbons L, Hermosilla C. 2016. Principles of Veterinary Parasitology. Reino Unido: Wiley-Blackwell. 312 p.
- Jiménez AE, Montenegro VM, Hernández J, Dolz G, Maranda L, Galindo J, Epe C. Schnieder T. 2007. Dynamics of infections with gastrointestinal parasites and *Dictyocaulus viviparus* in dairy and beef cattle from Costa Rica. Vet. Parasitol. 148: 262-271.
- Karn-Buehler J, Kuhne F. 2021. Perception of stress in cats by German cat owners and influencing factors regarding veterinary care. J Feline Med Surg. [Internet]. [citado el 24 de agosto de 2022]; 24(8):700-708. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1098612X211041307>
- Liberska J, Michalik J, Pers-Kamczyc E, Wierzbicka A, Lane RS, Rączka G, Opalińska P, Skorupski M, Dabert M. 2021. Prevalence of *Babesia canis* DNA in *Ixodes ricinus* ticks collected in forest and urban ecosystems in west-central Poland. Ticks Tick Borne Dis. [Internet]. [citado el 7 de septiembre de 2022]; 12(5). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877959X21001394>
- Loving NS [Internet]. 2018. European equine parasite control through national legislation. EquiManagement. [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en:

<https://equimanagement.com/articles/european-equine-parasite-control-through-national-legislation/>

Lucius R, Loos-Frank B, Lane RP. 2018. Biologie von Parasiten. Alemania: Springer Spektrum. 546 p.

Macherey-Nagel. 2017. Genomic DNA from tissue. User manual. Alemania: Macherey-Nagel GmbH & Co. KG. 42 p.

Macherey-Nagel. 2019. Genomic DNA from blood. User manual. Alemania: Macherey-Nagel GmbH & Co. KG. 26 p.

Megacor [Internet]. 2021. FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip. Instrucciones de uso. Hörbranz (Austria): Diagnostik Megacor. [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en: https://www.megacor.at/useruploads/files/fastest_cryptogiardiasstrip_gb_es_web.pdf

Mihalca AD. 2013. Textbook of Veterinary Parasitology: Introduction to parasitology. Protozoology. Romania: AcademicPres. 198 p.

Niehaus C, Valerio I, Blanco K, Chinchilla M. 2012. Infecciones parasitarias del coyote, *Canis latrans* (Carnivora: Canidae) en un Parque Nacional y una zona agrícola en Costa Rica. Rev. Biol. Trop. [Internet]. [citado el 5 de septiembre de 2022]; 60(2):799-808. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v60n2/a23v60n2.pdf>

Picado C, Trejos A. 2020. Biología Hematológica Elemental Comparada. Costa Rica: Editorial UCR. 408 p.

- Pinn TL, Forrestal AM, Duhamel GE, Crouch EE, Thompson BS, Lejeune M [Internet]. 2021. *Strongyloides papillosus*. A new differential for sudden death in weaned calves and lambs. . Ithaca (NY): Cornell University. [citado el 5 de setiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/testing/protocols/strongyloides-papillosus>
- Pratt HD. 1967. Pictorial keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance – Ticks. Estados Unidos: U.S. Department of Health, Education and Welfare. 192 p.
- Robertson LJ, Selstad K, Goyal K, Sehgal R. 2014. Keeping parasitology under the One Health umbrella. *Trends Parasitol.* [Internet]. [citado el 9 de setiembre de 2021]; 30 (8): 369-372. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7128114/> doi: 10.1016/j.pt.2014.06.002
- Rodríguez R, editor. 2015. Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. 1 ed. Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán. 494 p.
- Sánchez-Paniagua K. 2019. Composición de parásitos presentes en poblaciones de mapaches (*Procyon lotor*, Carnivora: Procyonidae) del GAM: recomendaciones para su manejo. Heredia, C.R.: Proyecto de graduación (Licenciatura). Universidad Nacional.
- Schmäscke R. 2014. Die koproskopisch Diagnostik von Endoparasiten in der Veterinärmedizin. Alemania: Schlütersche. 152 p.

- Scott HG, Littig KS [Internet]. 1963. Flies of public health importance and their control. Estados Unidos: U.S. Department of Health, Education and Welfare. [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/7611/cdc_7611_DS1.pdf
- Seguel M, Gottdenker N. 2017. The diversity and impact of hookworm infections in wildlife. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* [Internet]. [citado el 5 de setiembre de 2022]; 6(3): 177–194. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5526439/> doi: 10.1016/j.ijppaw.2017.03.007
- Selzer PM, Epe C. 2020. Antiparasitics in Animal Health: Quo Vadis? *Trends Parasitol.* [Internet]. [citado el 9 de setiembre de 2021]; 37 (1): 77-89. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492220302464> doi:10.1016/j.pt.2020.09.004
- Seron Sanches G, Villar M, Couto J, Ferrolho J, Fernández de Mera IG, Rogério André M, Barros-Battesti DM, Zacarias Machado R, Bechara GH, Mateos-Hernández L, de la Fuente J, Antunes S, Domingos A. 2021. Comparative proteomic analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) tropical and temperate lineages: uncovering differences during *Ehrlichia canis* infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* [Internet]. [citado el 9 de setiembre de 2022]; Vol 10. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.611113/full>
- Solórzano JA, Morales JL, Apuy M, Gómez Y, Vargas C, Rodríguez L, Alpízar D. [Internet]. 2011. Guía práctica de diagnóstico de la mosca del establo *Stomoxys calcitrans* y otros dípteros asociados a rastrojos de piña. Costa Rica: Pitta Piña.

[citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en:
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-1444.pdf>

Springer A, Glass A, Probst J, Strube C. 2021. Tick-borne zoonoses and commonly used diagnostic methods in human and veterinary medicine. *Parasitol. Res.* [Internet]. [citado el 7 de septiembre de 2022]; 12(5). Disponible en:
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00436-020-07033-3.pdf>

Swayne DE (editor). 2013. *Diseases of poultry*. Estados Unidos: Wiley-Blackwell. 1394 p.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2016. *Veterinary Parasitology*. Reino Unido: Wiley-Blackwell. 1006 p.

Thamsborg SM, Ketzis J, Horii Y, Matthews JB. 2016. *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. *Parasitology*. [Internet]. [citado el 1 de setiembre de 2022]; 144(3): 274-284. Disponible en:
<https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/strongyloides-spp-infections-of-veterinary-importance/0E052A0C75B34441289883C1A4DDBC51>
doi:10.1017/S0031182016001116

Tropical Council for Companion Animals Parasites (TroCCAP) [Internet]. 2019a. Guidelines for the diagnosis, treatment and control of canine endoparasites in the tropics. TroCCAP. [citado el 5 de setiembre de 2022]. Disponible en:
https://www.troccap.com/2017press/wp-content/uploads/2019/05/TroCCAP_Canine_Endo_Guidelines_English_Ver2.pdf

Tropical Council for Companion Animals Parasites (TroCCAP) [Internet]. 2019b. Guidelines for the diagnosis, treatment and control of feline endoparasites in the

tropics. TroCCAP. [citado el 5 de setiembre de 2022]. Disponible en:
https://www.troccap.com/2017press/wp-content/uploads/2019/06/TroCCAP_Feline_Endo_Guidelines_English_Ver2.pdf

Tropical Council for Companion Animals Parasites (TroCCAP) [Internet]. 2022. Guidelines for control of ectoparasites of dogs and cats in the tropics. TroCCAP. [citado el 6 de setiembre de 2022]. Disponible en:
<https://www.troccap.com/2017press/wp-content/uploads/2022/01/TroCCAP-Canine-Feline-Ecto-Guidelines-English-v1.pdf>

Vargas M. 2020. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos cebú en explotaciones de ganado de cría en Costa Rica: estudio preliminar. Heredia, C.R.: Tesis (Licenciatura). Universidad Nacional.











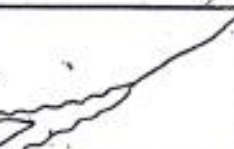
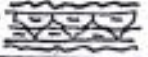

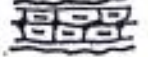


Weide-parasiten [Internet]. 2018. Entwurmungsmittel. Alemania: Johann Heinrich von Thünen-Institut. [citado el 24 de agosto de 2022]. Disponible en:
<https://www.weide-parasiten.de/jungrinder/behandlung/>

Zajac AM, Conboy GA. 2012. Veterinary Clinical Parasitology. Reino Unido: Wiley-Blackwell. 354.

7. ANEXOS

7.1 Claves para la identificación de larvas L3 de nematodos de rumiantes

Características de larvas de 3^o est. (o L. inf.) de nematodos (rumiantes)

GENERO	Tipo de cauda	comp. total	Forma de Cauda	Reg. ant. de algunas particularidades
Trichostrongylus sp	corta	± 650 μ		
Ostertagia sp	corta	± 840 μ		
Bunostomum sp	media	± 600 μ		Dilatación de esófago en la parte distal. Coram se ben com Lugol 
Haemonchus sp	media	± 720 μ		
Cooperia sp	media	± 800 μ		 2 cuerpos refringentes en la región anterior
Oesophagostomum	larga	760 μ a 1100 μ		cutícula rugosa. celulas intestinales poligonales 
Chabertia sp	larga	724 μ a 890 μ		celulas intestinales rectangulares  *
Nematodius	larga	920 μ a 1130 μ		So e encontrado em cultura de mais de 10 dias
Strongyloides sp		± 580 μ		Sem bainha Cauda bifida

7.2 Protoccolo de PCR convencional para la determinación de *Echinococcus multilocularis*, *E. granulosus* y *Taenia saginata*

Datum:

23.02.2022

Qiagen Multiplex	25 µl Ansatz		Temp: 95°C 15min 94°C 30 sec 40x 58°C 90 sec 72°C 10 sec
	1	x	7 x
water	9	µl	63 µl
10x Taq buffer	12,5	µl	87,5 µl
dNTP Mix (10mM)	0	µl	0 µl
Primermix	2,5	µl	17,5 µl
Cest1,2,3,4 2µM Cest 5 16µM		µl	0 µl
MgCl2 (25 mM)	0	µl	0 µl
Taq Polymerase	0	µl	0 µl
	24	µl	168 µl

Template: 1 µl

Probe:	Pos E. multi	1
	Pos T.sag	1
	Pos E.gran.	1
	H2O PCR	1
	Probe Taenia BC 21.2.	3
	Probe-Taenia BC	3

2%iges Agarosegel

Marker = Mass Ruler Expr. Forward

7 µl

15µl Probe + 3µl Beladungspuffer 6x

7.3 Protocolo de PCR convencional para la determinación de *Babesia* spp.

PCR	Datum:	16.02.2022				
Dream Taq 25 µl Ansatz						Temp:
						<u>95°C 3min</u>
						94°C 30sec
						40x 55°C 30sec
						<u>72°C 60sec</u>
						72°C 10min
		1	x	3 x	+10%	
water		19,5	µl	58,5	µl	64,35
10x Taq buffer		2,5	µl	7,5	µl	8,25
dNTP Mix (10mM)		0,5	µl	1,5	µl	1,65
BJ1 (10 µM)		0,5	µl	1,5	µl	1,65
BN2 (10 µM)		0,5	µl	1,5	µl	1,65
MgCl2 (25 mM)		0	µl	0	µl	0
Taq Polymerase		0,5	µl	1,5	µl	1,65
		24	µl	72	µl	79,2
Template:			1 µl			
Proben:		1	PK			
		2	519/22			
		3	NK			

Bandenhöhe: 500 bp

7.4 Protocolo de PCR en tiempo real para la determinación de *Borrelia* spp.**Borrelia + ITS**

16.02.2022

Duplex Real-Time PCR

set parameters		
total number of reactions	11	rxns
reaction volume	25	µl
template volume (diverse)	10	µl
Mg [] final	0,0	mM
FP forward primer [5 µM]	50	µM
RP reverse primer [5 µM]	50	µM
P probe [3 µM]	10	µM

set optimal concentrations	
Mg [] in mM	0,0
FP [] in nM	300
RP [] in nM	300
P [] in nM	25

Preparation of master mix (MM)					
reagent	concentration stock	concentration final	µl per 1 rxn	µl per rxns 11	reagent
Target (A u. T)	diverse	diverse	10,00	40,00	template, add later !!!
water		ad endvol.	1,78	19,55	water
Thermo	2 X	1 X	12,50	137,50	TaqMan buffer A
FP forward primer	50	300	0,15	1,65	FP forward primer
RP reverse primer	50	300	0,15	1,65	RP reverse primer
Sonde	10	25	0,06	0,69	Sonde
FP forward primer	50	300	0,15	1,65	FP forward primer
RP reverse primer	50	300	0,15	1,65	RP reverse primer
Sonde	10	25	0,06	0,69	Sonde
total volume µl			25,00	205	total volume µl
volume should be			25,00	275,00	
combine			10	µl template with	15
				µl MasterMix	

Programm:

3 Step PCR

95°C 15 min

94°C 20 sec

56°C 60 sec

72°C 45 sec

40 Zyklen

Test-DNA: 10 µL DNA + 15 µL MM / well

Standardreihe: 2 µL DNA + 8 µL ddH₂O + 15 µL MM / wellNegativ (NCT): 10 µL ddH₂O + 15 µL MM / well

Doppelansatz ⇒ ein Well mit doppelter Menge vorbereiten:

↳ MM in PCR-Labor vorlegen, Rest in DNA-Labor dazu

Test-DNA: 30 µL MM + 20 µL DNA

Standardreihe: 30 µL MM + 2 µL Plasmidst. 1 + 2 µL Plasmidst. 2 + 16 µL Millipore-H₂ONegativ (NCT): 30 µL MM + 20 µL Millipore-H₂O

	1/2	3/4	5/6	7/8	9/10	11/12
A	Bor 10 ⁶					
B	Bor 10 ⁴ / Its 10 ⁴					
C	Bor 10 ²					
D	NTC					
E	519/22					
F						
G						
H						
	10	0	0	0	0	0

rxns= 10 +10%
11

7.5 Protocolo de PCR en tiempo real para la determinación de ETG

FSEM-PCR

16.02.2022

Probenanzahl	8
V / rxn [μ L]	16
V _{Template} / rxn [μ L]	4

	1 rxn	9 rxn
Reaction Mix A1	15.80	139.04
Enzym A2	0.20	1.76
	16.00	140.80

Programm:

45°C 20 min
95°C 10 min
95°C 15 sec
57°C 30 sec
72°C 15 sec
45 Zyklen

32 μ L MM + 8 μ L Probe/H₂O/PK/NK40 μ L Ansatz -> 20 μ L/Well

	1/2	3/4	5/6	7/8	9/10	11/12
A	PK					
B	NK					
C	NTC					
D	519/22					
E						
F						
G						
H						

8

0

0

0

0

0

10%

rxns=

8

9

7.6 Protocolo de disección de roedores

Sektion Wildnager

Materialien:

- Metalltablets
- Sektionsbesteck (Scheren, Pinzetten)
- 1,5 ml Eppis/15 Falcons zum Einfrieren der Proben
- Pipette (+Spitzen) oder Pasteurpipetten, um Herzblut zu gewinnen
- Permanentmarker

Durchführung:

- **Speziesbestimmung**
- **Kopf-Rumpf-Länge**
- **Kopf-Schwanz-Länge**
- **Gewicht**
- **Ektoparasiten** aus Tüte sammeln
- Ohren, Augen, Fell nach Ektoparasiten absuchen, diese absammeln und Anzahl notieren
- Notieren, ob **Co-Feeding** vorliegt (welche Zeckenstadien?)
- **Kot** aus dem Enddarm oder Tüte gewinnen
- **Fell** abziehen zur späteren Untersuchung auf weitere Ektoparasiten, einfrieren
- **Geschlecht** bestimmen (ggf. nach Eröffnung)
- **Reproduktionsstatus**
- Zu entnehmende Proben (einfrieren):**
 - beide **Ohren** (*Rickettsia*-, *Borrelia*-Nachweis), **rechtes Ohr durch einschneiden markieren!**
 - **Milz** (ggf. *Anaplasma*-, *Babesia*-, *Rickettsia*-, *Borrelia*-Nachweis)
 - Verdauungstrakt:
 - Magen, Dünn- und Dickdarm** getrennt entnehmen (werden später auf Endoparasiten untersucht, dabei auch und aufheben für evtl. *Crypto*-/*Giardia*-Diagnostik)
 - ggf. vorhandene **makroskopisch sichtbare Parasiten** (z.B. Bandwürmer) in Eppi einfrieren
 - Thorax + Herz eröffnen: So viel **Blut** wie möglich (auch geronnen) aus Herz und Gefäßen gewinnen (*Anaplasma*-Nachweis)
 - Schädel eröffnen, **Gehirn** entnehmen

Besonderheiten (z.B. Veränderung von Organen wie Zysten etc.) notieren

Um Kreuzkontamination zu vermeiden: jeweils saubere Scheren/Pinzetten/Tablets für jedes Tier verwenden, nach Gebrauch reinigen und mit DNA-Away dekontaminieren

7.7 Criterio taxonómico para la identificación de roedores

Apodemus flavicollis (Yellow-necked mouse)

- Head-tail length 88 - 130 mm
- Tail length 90 - 135 mm (Tail longer than head-tail length)
- Weight 26 - 36 g
- Hindfoot length 18.5-27 mm
- Dorsal side reddish/yellowish brown
- Ventral side almost pure white (sharp distinction between ventral and dorsal color)
- • Yellowish **band** around the neck
- Feet dorsally with white hair



Apodemus sylvaticus (Wood mouse)

- Head-tail length 80 - 110 mm
- Tail length 70 - 115 mm (as long as head-tail length)
- Weight 13 - 36 g
- Dorsal side yellowish to brownish grey, in older animals reddish
- Ventral side whitish
- Transition between dorsal and ventral colour soft, blurred
- • Yellowish oval **spot** on ventral side of neck (can be absent)
- Feet dorsally with white hair



Apodemus agrarius (Black-striped mouse)

- Head-tail length 63 - 115 mm
- Tail length 53 bis 94 mm
- Weight up to 60 g
- Hindfoot length 13.5 - 22 mm
- • Reddish fur, narrow **black stripe** on back
- Ventral side whitish, females have 4 mamillae



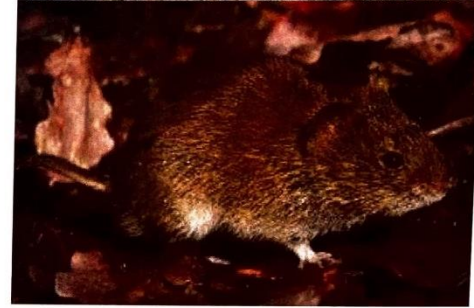
Mus musculus (House mouse)

- Head-tail length 70 - 110 mm
- Tail length 70 - 100 mm
- • Tail with rings and sparse hair
- Weight 17 - 25 g
- Hindfoot length: 16-19 mm
- Large ears
- • Dorsal side grey to brownish grey
- Ventral side light grey



Myodes glareolus (Bank vole)

- Head-Tail length
- Kopf-Rumpf-Länge 70- 130 mm
- Tail length 22- 65 mm
- Longer tail than short-tailed vole!
- Hindfoot length 16 - 20 mm
- Weight 12 - 35 g
- Dorsal side rusty red
- Flanks brownish-grey with light hue
- Ventral side whitish-grey



Microtus agrestis (Short-tailed vole)

- Head-tail length 93 - 135 mm
- Tail length 26 - 49 mm
- Weight 20 – 47 g
- Hindfoot length 17-21 mm
- Dorsal side dark brown to red brown
- Ventral side whitish-yellowish
- Densely haired ears



Microtus arvalis (Common vole)

- Head-tail length 81-120 mm
- Tail length 27-42 mm
- Weight 18 - 40 g
- Hindfoot length 14-17 mm
- Dorsal side brown-grey
- Ventral side whitish-yellowish



Micromys minutus (Eurasian harvest mouse)

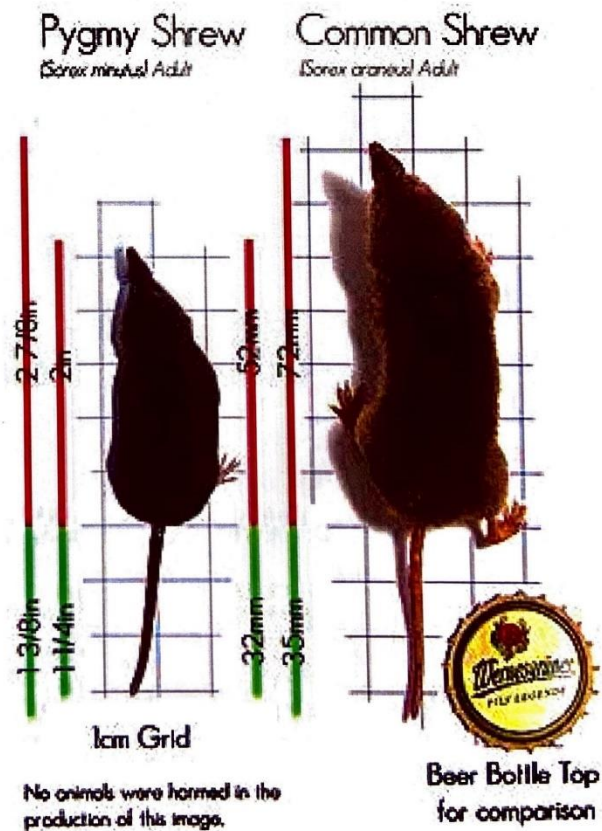


- Head-tail length 55- 75 mm
- Tail length 50 - 75 mm
- Weight 4 - 11 g
- Dorsal side reddish brown
- Ventral side white
- Tail bicolored and furless at the tip
- Broad feet with opposable toe



Shrews – characterized by long, pointed snout

There are more than these two species,
just write „shrew“



Arvicola terrestris (European water vole)



- Head-tail length 130 -240 mm
- Tail length 50 -146 mm
- Weight 65 -320 g
- Long, thick fur
- Dorsal side dark brown colour
- Ventral side whitish to yellowish grey
- Fur-covered tail

Rattus rattus (Black rat)

- Head-tail length 160 – 240 mm
- Tail length 180 - 250 mm
- Tail with 200 - 250 rings
- Weight 200 – 400 g
- Pointed snout
- Large eyes and ears (larger than brown rat)
- Greyish-black or brownish grey, sometimes with grey or white ventral side



Rattus norvegicus (Brown rat)

- Head-tail length 190 – 290 mm
- Tail length 130 - 230 mm
- Tail with 163 - 205 rings
- Weight 170 - 520 g
- Blunt snout
- Thick tail
- Rather small ears
- Dorsal side grey-brown, reddish or brown-black
- Ventral side greyish white
- Tail bicoloured, dorsal side grey-brown, ventral side lighter

