



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

**Departamento de Parasitología
Facultad de Farmacia**

Protocolos de Prácticas de Parasitología Alimentaria

Grado en Nutrición Humana y Dietética

Curso 2022-23

Práctica 1. Observación de trematodos y cestodos parásitos del hombre

MATERIAL

A) Preparaciones

Trematodos

- *Fasciola hepatica*: Adulto
Huevo
Metacercaria
- *Clonorchis sinensis*: Adulto
- *Dicrocoelium dendriticum*: Adulto

Cestodos

- *Taenia* sp.: Escólex
Anillo inmaduro
Anillo maduro (sexuado)
Anillo grávido
Huevo
Cisticerco
Estrobilicerco
- *Hymenolepis nana*: Escólex y anillos
Huevo
- *Echinococcus granulosus*: Quiste hidatídico (sección)
- *Diphyllobothrium latum*: Anillos

B) Aplicación y protocolos de prácticas

C) Microscopio binocular y/o estereoscópico

OBJETIVOS

- Diferenciar morfológicamente los trematodos entre sí y de otros grupos de helmintos.
- Diferenciar morfológicamente los cestodos entre sí y de otros grupos de helmintos.
- Conocer las partes de un trematodo y de un cestodo adulto.
- Reconocer las características morfológicas diagnósticas de cada una de las especies y fases observadas.

METODOLOGÍA

Cada preparación está identificada con un número. Debe enfocar las preparaciones en el microscopio óptico/estereoscópico utilizando pequeños aumentos (solamente será necesario pasar a aumentos mayores para la observación de determinadas estructuras). Debe comprobar asimismo que la iluminación es la adecuada manejando condensador, diafragma y el regulador de intensidad de luz del microscopio.

Con ayuda de las explicaciones y esquemas debe realizar la observación e identificación de las preparaciones relacionadas anteriormente.

En el caso de las preparaciones de huevos, debe realizar un barrido de las mismas.

CONDICIONES REQUERIDAS PARA LA OBSERVACIÓN

| Parásito | Búsqueda | Objetivo de observación |
|---|----------|-------------------------|
| <i>Fasciola hepatica</i> (adulto) | 4X | 4-10X |
| <i>F. hepatica</i> (huevo) | 10X | 10-40X |
| <i>F. hepatica</i> (metacercaria) | 10X | 10-40X |
| <i>Clonorchis sinensis</i> (adulto) | 4X | 4-10X |
| <i>Dicrocoelium dendriticum</i> (adulto) | 4X | 4-10X |
| <i>Taenia</i> sp. (escólex y anillos) | 4X | 4-10X |
| <i>Taenia</i> sp. (huevos) | 10X | 40X |
| <i>Taenia</i> sp. (cisticerco) | 4X | 10X |
| <i>Taenia</i> sp. (estrobilicerco) | 4X | 4-10X |
| <i>Hymenolepis nana</i> (escólex y anillos) | 4X | 10X |
| <i>H. nana</i> (huevos) | 10X | 40X |
| <i>E. granulosus</i> (quiste hidatídico) | 4X | 10-40X |
| <i>Diphyllobothrium latum</i> (anillos) | 4X | 10-40X |

TRABAJO DEL ALUMNO

F. hepatica (adulto): Observación de las ventosas oral y ventral. Observación y diferenciación de los aparatos digestivo y reproductor.

F. hepatica (huevos): Búsqueda y observación de su morfología.

F. hepatica (metacercaria): Búsqueda y observación de sus principales características morfológicas.

Clonorchis sinensis (adulto): Observación y diferenciación de los órganos de fijación y aparatos digestivo y reproductor.

Dicrocoelium dendriticum (adulto): Observación de los órganos de fijación y aparatos digestivo y reproductor.

Taenia sp.: Observación de la forma del escólex y órganos de fijación.

Observación de las diferencias en los distintos tipos de anillos en cuanto a forma, tamaño y organización interna.

Búsqueda de los huevos que pueden contaminar los alimentos y observación de su morfología.

Observación de la morfología del cisticerco y del estrobilicerco.

Hymenolepis nana: Observación del escólex y órganos de fijación.

Observación de la organización interna de los anillos sexuales.

Búsqueda y observación del huevo.

Echinococcus granulosus: Distinguir las distintas membranas y estructuras del quiste hidatídico.

Diphyllobothrium latum: Observación de los anillos y su diferencia con los de *Taenia* sp.

Práctica 2.

I. Observación de nematodos parásitos del hombre.

II. Aislamiento e identificación de larvas de anisákidos de tejido muscular de peces.

MATERIAL

A) Preparaciones:

- *Trichuris trichiura*: Adultos
Huevos
- *Trichinella spiralis*: Larvas en músculo estriado
- *Ascaris lumbricoides*: Huevos
- *Enterobius vermicularis*: Hembra
- *Ancylostoma* sp: Adultos
- *Strongyloides* sp: Larvas rabsitoides

B) Aplicación y protocolos de prácticas. Esquemas de las larvas de anisákidos.

C) Microscopio binocular y/o microscopio estereoscópico.

D) Pescado y material de disección

E) Porta y cubreobjetos

OBJETIVOS

- Diferenciar morfológicamente los nematodos de otros grupos de helmintos.
- Reconocer las características morfológicas diagnósticas de cada una de las especies observadas.
- Identificar las características diagnósticas de los huevos de *Trichuris trichiura* y *Ascaris lumbricoides*.
- Identificar las características de las larvas de *Strongyloides*
- Aislar y reconocer las características diagnósticas del extremo anterior y posterior de las larvas de *Anisakis*.

METODOLOGÍA

Cada preparación está identificada con un número, debe enfocar las preparaciones en el microscopio óptico/estereoscópico utilizando pequeños aumentos (solamente será necesario pasar a aumentos mayores para la observación de determinadas estructuras), debe comprobar asimismo que la iluminación es la adecuada manejando adecuadamente condensador, diafragma y el regulador de intensidad de luz del microscopio.

Con ayuda de las explicaciones debe realizar la observación de las especies relacionadas anteriormente.

En el caso de las preparaciones de huevos, debe realizar un barrido de las mismas.

CONDICIONES REQUERIDAS PARA LA OBSERVACIÓN:

| Parásito | Búsqueda | Objetivo de observación |
|---|-----------------|--------------------------------|
| <i>Trichuris trichiura</i> (adultos) | 4X | 4-10X |
| <i>T. trichiura</i> (huevos) | 10X | 40X |
| <i>Trichinella spiralis</i> (larvas) | 4X | 10-40X |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> (huevos) | 10X | 40X |
| <i>Enterobius vermicularis</i> (hembra) | 4X | 10-40X |
| <i>Ancylostoma</i> sp. (adultos) | 4X | 10-40X |
| <i>Strongyloides</i> sp. (larvas rabditoides) | 4X | 10-40X |
| Larvas de <i>Anisakis</i> | 4X | 10-40X |

En el caso de las larvas de *Anisakis*, para su observación deberá montarlas entre porta y cubre objetos de la forma siguiente:

- 1.- En el centro del portaobjetos colocar una gota abundante de agua y sobre ella la larva.
- 2.- Poner el cubreobjetos y observar.

TRABAJO DEL ALUMNO

Trichuris trichiura (adultos): Observación del extremo anterior y posterior, tipo de esófago.

T. trichiura (huevos): Búsqueda y observación de su morfología

Trichinella spiralis (larvas): Búsqueda del quiste tisular y observación de la larva en su interior.

Ascaris lumbricoides (huevos): Búsqueda y observación de su morfología.

Enterobius vermicularis (hembra): Observación de los extremos anterior y posterior y reconocimiento del tipo de esófago.

Ancylostoma sp (adultos): Observación de los extremos anterior y posterior.

Strongyloides sp (larvas rabditoides): Observación de los extremos anterior y posterior, cápsula bucal, esófago rabditoide.

Larvas 3 de *Anisakis*: Observación del extremo anterior (labios, diente, esófago, ventrículo) y posterior (ano, glándulas anales, mucrón).

Práctica 3. Observación de protozoos parásitos del hombre

MATERIAL

A) Preparaciones:

- *Entamoeba histolytica*: Trofozoítos
Quistes
- *Giardia lamblia*: Trofozoítos
Quistes
- *Toxoplasma gondii*: Quistes tisulares
- *Plasmodium falciparum*: Formas sanguíneas (en anillo, esquizontes y gametocitos)
- Phylum Apicomplexa: Ooquistes

B) Aplicación y protocolos de prácticas.

C) Microscopio binocular.

OBJETIVOS

- Identificar las características diagnósticas de las diferentes especies de protozoos transmitidos por alimentos: forma, tamaño, número de núcleos y características de los mismos, presencia de pseudópodos o de flagelos.
- Diferenciar las fases del ciclo biológico de las especies observadas.
- Diferenciar las fases del ciclo eritrocítico de *Plasmodium falciparum*, agente etiológico de la malaria.

METODOLOGÍA

Cada preparación está identificada con el nombre de la especie y fase del ciclo. Para su observación se utilizará el microscopio óptico según la pauta general que se da a continuación:

1. Enfocar con el objetivo de 10X.
2. Utilizar una iluminación adecuada, manejando condensador, diafragma y el regulador de intensidad de luz del microscopio
3. Observación de la muestra con los objetivos correspondientes (ver condiciones requeridas para la observación).

Con ayuda de las explicaciones realizar la observación de las especies relacionadas anteriormente.

Debe realizar un barrido de las preparaciones.

CONDICIONES REQUERIDAS PARA LA OBSERVACIÓN:

| Parásito | Búsqueda | Objetivo de observación |
|--|----------|-------------------------|
| <i>E. histolytica</i> (trofozoítos, quistes) | 40X | 100X |
| <i>Giardia lamblia</i> (trofozoítos teñidos) | 40X | 100X |
| <i>G. lamblia</i> (quistes en fresco) | 40X | 40X |
| <i>Toxoplasma gondii</i> (quistes tisulares) | 10X | 40X |
| Phylum Apicomplexa (ooquistes de coccidios en fresco) | 40X | 40X |
| <i>Plasmodium falciparum</i> (forma en anillo, esquizonte, gametocito) | 40X | 100X |

MUY IMPORTANTE: Con el objetivo **100X es imprescindible** depositar una gotita de aceite de inmersión entre el cubreobjetos y el objetivo. Seguir la metodología explicada. Con el objetivo de **40X no utilizar aceite de inmersión.**

TRABAJO DEL ALUMNO

Entamoeba histolytica (trofozoítos): Observación de los pseudópodos y el núcleo.

E. histolytica (quistes): Observación del número de núcleos, vacuola de glucógeno y barras cromatoidales. Diferenciar quistes inmaduros y maduros.

Giardia lamblia (trofozoítos): Observación de su forma, núcleos, flagelos, cuerpos medios y disco suctor.

G. lamblia (quistes): Observación de su forma, núcleos, axonemas y cuerpos medios.

Toxoplasma gondii (quistes): Observación de la forma, parásitos en su interior y localización intracelular.

Ooquistes de coccidios intestinales (Apicomplexa): Observación de la morfología. Diferenciar entre ooquistes maduros e inmaduros.

Plasmodium falciparum: Observar su localización intraeritrocítica. Diferenciar las distintas fases del ciclo que se encuentran en el frotis sanguíneo.

Práctica 4. Observación de artrópodos.

MATERIAL

A) Preparaciones:

- *Tribolium confusum*: Adulto
Larva
- *Oryzaephilus* sp: Adulto
- Calliphoridae: Larvas
- Sarcophagidae: Larvas
- *Tyrophagus putrescentiae*: Adultos

B) Aplicación y protocolos de prácticas

C) Microscopio binocular y/o microscopio estereoscópico.

OBJETIVOS

- Diferenciar morfológicamente los artrópodos de otros grupos de metazoos estudiados.
- Reconocer las características morfológicas diagnósticas de cada uno de los grupos estudiados.
- Diferenciar las estructuras más representativas del adulto y la larva de coleópteros
- Diferenciar el extremo anterior y posterior de las larvas de mosca.
- Diferenciar las estructuras más representativas de los ácaros adultos.

METODOLOGÍA

Cada una de las preparaciones está identificada con un número, debe enfocarlas en el microscopio óptico/estereoscópico utilizando siempre pequeños aumentos. Compruebe asimismo que la iluminación es la adecuada, cerrando o abriendo el condensador, diafragma y el regulador de la intensidad de la luz del microscopio.

Con ayuda de las explicaciones y esquemas que se adjunta realizar las observaciones de las especies antes indicadas.

CONDICIONES REQUERIDAS PARA LA OBSERVACIÓN

| Parásito | Búsqueda | Objetivo de observación |
|---------------------------------|----------|-------------------------|
| <i>Tribolium confusum</i> | 4X | 4-10X |
| <i>Oryzaephilus</i> sp | 4X | 4-10X |
| Larvas de mosca | 4X | 4-10X |
| <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | 4X | 10-40X |

TRABAJO DEL ALUMNO

Tribolium confusum: Observación del tamaño de los ojos y distancia entre ellos, forma de las antenas y margen de la cabeza.

Larva de *Tribolium*: Observación de la cabeza y sus estructuras, apéndices torácicos y extremo posterior.

Oryzaephilus: Observación de la cabeza y sus estructuras, tórax y extremo posterior.

Larvas de mosca: Observación de las estructuras del extremo anterior. Observación del extremo posterior (estigmas respiratorios). Diferencias entre las distintas familias.

Tyrophagus putrescentiae: Observar gnatosoma e idiosoma. Diferenciar entre macho y hembra.

Aislamiento e identificación de larvas de anisákidos de tejido muscular de peces

1.- MATERIAL

1.1.- Pescado, principalmente:

- Bacaladilla (*Micromesistius poutassou*)

1.2.- Material para la digestión:

- pinzas
- tijeras
- matraz de 250 ml
- estufa a 37 °C

1.3.- Reactivos para la digestión

- pepsina1 g
- HCl1 ml
- agua destilada a 37 °C100 ml

1.4.- Material para el aislamiento de los parásitos

- placas de petri
- agujas enmangadas
- solución de CNa al 0,9%

2.- AISLAMIENTO

2.1.- Preparación del líquido de digestión

- Poner el agua destilada a 37 °C en el matraz, añadir sobre ella el ácido clorhídrico, luego la pepsina y, seguidamente, agitar
- Medir el pH con papel de tornasol (debe ser 1,5-2)

2.2.- Procedimiento a seguir

- Realizar una disección siguiendo la línea alba, desde el extremo posterior hasta la zona opercular (ver figura en pág. siguiente)
- Separar la musculatura ventral y dorsal
- Dividir la musculatura en trozos de unos 4 cm
- Introducir en un matraz de 250 ml con el líquido de digestión
- Colocar en estufa a 37 °C

- Agitar cada 30 minutos y esperar hasta que la musculatura esté digerida (aproximadamente 2 h)
- Depositar alícuotas (10-15 ml) en una placa de petri
- Aislar los parásitos con ayuda de la aguja enmangada
- Poner los parásitos en placa de petri con la solución salina al 0,9%

3.- IDENTIFICACIÓN

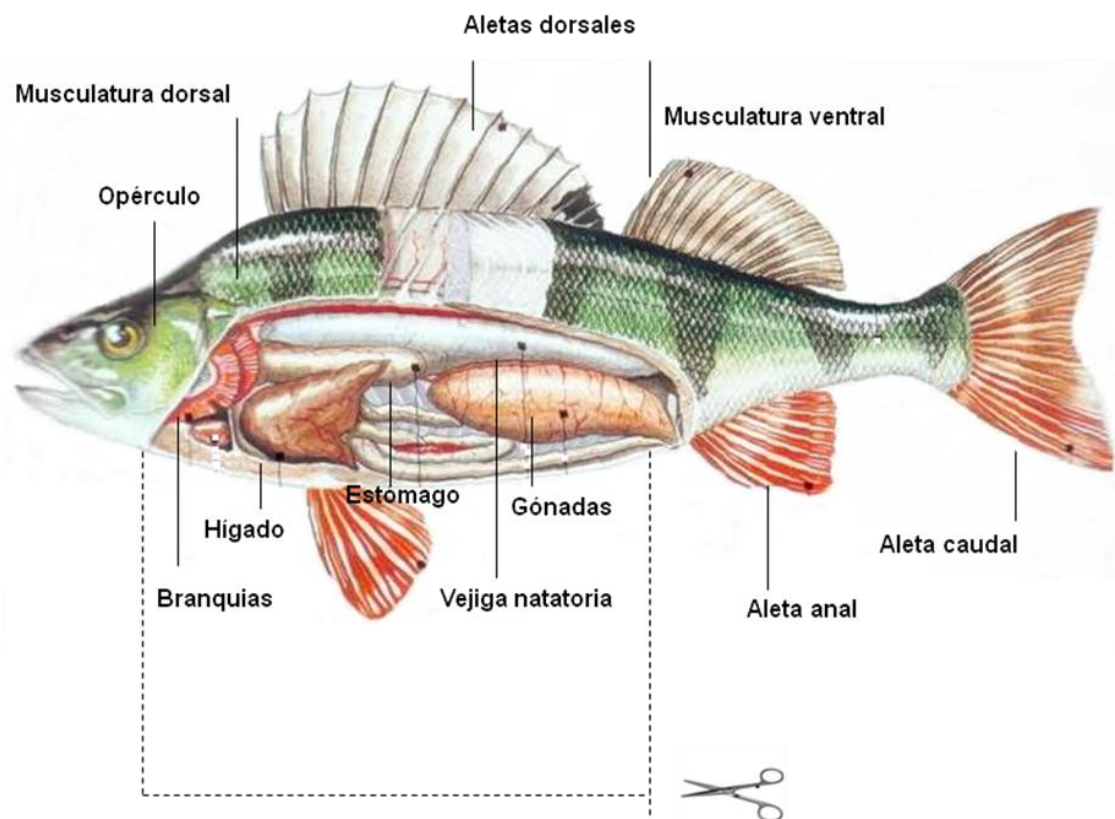
3.1.- Al microscopio estereoscópico

- Movimiento del parásito
- *Anisakis* spp.: ventrículo (mancha oscura y alargada en el 1/3 anterior del cuerpo)

3.2.- Al microscopio óptico

- Estructuras identificativas de L3 de *Anisakis* spp.

Representación esquemática de la anatomía de un pez



**Cuestiones a resolver por el alumno
(Obligatorio)**

TREMATODOS

1. Indique 3 características morfológicas y/o estructurales que identifiquen un trematodo adulto.

2. Indique los órganos de fijación de los trematodos observados en las prácticas.

3. ¿Cuál es la característica principal de los huevos de trematodos?

4. Indique las características identificativas de la metacercaria. ¿En qué tipos de alimentos podemos encontrar las metacercaria?

5. Las características siguientes: Ciegos intestinales ramificados, dos testículos ramificados situados al final del cuerpo, ovario ramificado anterior a los testículos, glándulas vitelógenas en los laterales del cuerpo, se corresponden con el parásito en su fase

6. Las características siguientes: Estructuras ovoides, de color amarillento, de 130-150 μm x 63-90 μm , operculadas, se corresponden con el parásito en su fase de

7. Las características siguientes: Estructuras ovoides, con forma de orza, de color pardoamarillento, de 28 x 16 μm , opérculo muy visible que encaja en un reborde de la cubierta, polo posterior con una pequeña protuberancia, se corresponden con el parásito..... en su fase de

CESTODOS

1. Indique 3 características morfológicas y/o estructurales que identifiquen un cestodo adulto.

2. Indique los órganos de fijación de los cestodos observados en la práctica.

3. Cite las fases del ciclo biológico de *Taenia* spp. indicando en qué tipo de alimentos podemos encontrar cada una de ellas.

4. Indique las fases del ciclo biológico de *Echinococcus granulosus* observadas.

5. Las características siguientes: Estructura ovoide, de aproximadamente 10 x 5 mm, con una invaginación en la pared en cuyo interior se observa un escólex con 4 ventosas y rostelo armado, se corresponde con de la especie

6. Las características siguientes: Estructura esférica, de 38 μm de diámetro, color marrón, cubierta externa de aspecto estriado, con oncosfera en su interior se corresponde con del/los parásito/s

7. Las características siguientes: Estructura ovoide, transparente, de 50 x 40 μm , con oncosfera en su interior, posee dos polos de los que salen varios filamentos, se corresponde conde la especie.....
.....

NEMATODOS

1. Indique 3 características diferenciales de los nematodos con respecto a cestodos y trematodos.

2. Las características siguientes: Estructura ovoide, de 70-75 x 50 μm , color pardo, cubierta externa mamelonada, se corresponde con de la especie

3. Las características siguiente: Estructura ovoide, superficie externa lisa con dos prominencias polares, color pardo, de 50-55 x 22 μm , se corresponde con de la especie

4. ¿Qué caracteriza el extremo anterior de los adultos de las uncinarias?

¿Y el extremo posterior?

5. Cite 3 características morfológicas que identifiquen a la hembra de *Enterobius vermicularis*.

6. ¿Qué fase/s del ciclo biológico de *Trichinella* spp. se han observado en las prácticas?

¿En qué muestra/s?

7. De los parásitos observados ¿con cuáles podemos parasitarnos al ingerir frutas y verduras?

¿Con qué fase del ciclo biológico?

PROTOZOOS

1. Indique las características identificativas del quiste de *Entamoeba histolytica*.

2. Indique las características identificativas del quiste de *Giardia lamblia*.

3. Indique las características identificativas de un ooquiste maduro de *Isospora*.

4. Señale lo correcto: En una muestra de agua podemos encontrar:

- a) Trofozoítos de *Entamoeba histolytica*
- b) Quistes de *Entamoeba histolytica*
- c) Quistes de *Giardia lamblia*
- d) Ooquistes de *Isospora*

5. ¿En qué muestras podemos encontrar los quistes de *Toxoplasma gondii*?

¿Y los ooquistes?

6. ¿Qué fases del ciclo de *Plasmodium* spp. pueden observarse en un frotis sanguíneo?

ARTRÓPODOS

1. Indique 2 diferencias morfológicas entre los coleópteros de los géneros *Tribolium* y *Oryzaephilus*.

2. ¿Cuál es la principal estructura que permite identificar las larvas de moscas?

Indique la principal diferencia en Calliphoridae y Sarcophagidae.

3. Indique dos diferencias morfológicas importantes para la identificación de machos y hembras de *Tyrophagus* spp.

4. Indique las principales diferencias morfológicas entre insectos y ácaros.

TÉCNICAS

Aislamiento e identificación de larvas de anisákidos del tejido muscular de peces

1. Haga un esquema de los pasos a seguir para aislar las larvas de anisákidos.
2. Indique las características identificativas de las larvas de *Anisakis* spp. al microscopio estereoscópico.
3. Idem para la identificación de las larvas de *Hysterothylacium* spp.
4. Indique 3 estructuras para identificar las larvas de *Anisakis* spp. al microscopio óptico.
5. Indique 3 estructuras para identificar las larvas de *Hysterothylacium* spp. al microscopio óptico.

**ESQUEMA PARA LA REALIZACIÓN DEL CUADERNO
DE PRÁCTICAS (Trabajo voluntario)**

PRÁCTICA 1, 2.....: Indicar el grupo de parásitos que se estudia: trematodos, cestodos,...

Parásitos estudiados (nombre científico): sistema binomial. Ej. *Giardia lamblia*

Fase parasitaria: adulto macho o hembra, larva, huevo, ...

Esquema ilustrado: Dibujo del elemento parasitario observado indicando sus características visibles.

Características identificativas: aquellas que permiten identificar el parásito y sus fases y diferenciarlos de otros/as.

Bibliografía utilizada (citada correctamente).