

La Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (ReBAMB): fuente de una relación fructífera en logros científicos e institucionales

The Alberto Manuel Brenes Biological Reserve (ReBAMB): source of a fruitful relationship in scientific and institutional achievements

Misael Chinchilla¹ Idalia Valerio¹
Laura Valerio¹ José Bolaños¹
Ronald Sánchez²

Recibido: 15/11/2016 / Aprobado: 7/3/2017

Resumen

Se realiza un relato secuencial de toda una relación científica entre la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (ReBAMB) y la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). En esta revisión del trabajo realizado, se comenta en primer lugar, cómo se establece la relación científica entre los grupos de trabajo de ambas instituciones. De seguido se indican los proyectos en los que se esquematiza una metodología básica, desde cuyos detalles se orienta al lector hacia las publicaciones generadas como resultado de esta alianza. Se enumeran luego dichas publicaciones; por cantidad, por tema y por etapa de investigación son las siguientes: Etapa previa de relación entre los grupos, Tema de estudio, Características biológicas y de salud de los primates de Costa Rica con un total de 17 publicaciones, todas citadas en las referencias, Etapa de investigación en la ReBAMB, Primer tema de estudio. Búsqueda de componentes químicos activos contra parasitosis, con 5 publicaciones, el segundo fue el estudio de la endofauna de algunos animales pequeños de la ReBAMB con 4 publicaciones relevantes, pues en dos de ellas se presenta el reporte de 3 protozoarios nuevos en el mundo, *Eimeria rebambensis*, *E. melanomytis* y *E. caliginosa*, parasitando al roedor *Melanomys caliginosus*. Además el reporte de un nuevo trasmisor silvestre del *Trypanosoma cruzi*, parásito causante de la Enfermedad de Chagas. Se resalta la importancia de la ReBAMB como fuente inagotable de producción científica y la experiencia positiva que significa en la ciencia, la unión de dos universidades, una pública y otra privada.

Palabras Claves: relación científica, reserva biológica, publicaciones conjuntas, nuevas especies *Eimeria rebambensis*, *E. melanomytis* y *E. caliginosa*, para *Melanomys caliginosus*, *Trypanosoma cruzi*

Abstract

A sequential account of a whole scientific relationship is made between the Alberto Manuel Brenes Biological Reserve (ReBAMB) and the University of Medical Sciences (UCIMED). In this review of the work done, we first discuss how the scientific relationship between the working groups of both institutions is established. The following are the projects carried out in which a basic methodology is outlined, the details of which guide the reader to the publications generated as a result of this alliance. These publications are listed below by quantity, by subject and by research stage, Prior stage of relationship between groups Subject of study, Biological and health characteristics of primates from Costa Rica with a total of 17 publications, all cited in the references, Research stage in the ReBAMB, First subject of study, Search of active chemical components against parasitosis with 5 publications, Second research topic, Study of the endofauna of some small animals of the ReBAMB with 4 relevant publications, as two of them present the report of 3 new protozoa in the world, *Eimeria rebambensis*, *E. melanomytis* and *E. caliginosa*, parasitizing the rodent *Melanomys caliginosus*. In addition the report of a new wild transmitter of *Trypanosoma cruzi*, parasite that causes Chagas disease. It highlights the importance of ReBAMB as an inexhaustible source of scientific production and the positive experience it means in science, the union of two universities, one public and one private.

Key words: Scientific relationship, biological reserve, joint publications, new species *Eimeria rebambensis*, *E. melanomytis* and *E. caliginosa*, for *Melanomys caliginosus*, *Trypanosoma cruzi*.

¹ Dirección para correspondencia. Misael Chinchilla. Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). Tel. 2549-0000 Ext. 1124 y 1153. San José, Costa Rica,

² Sede Regional de Occidente, Universidad de Costa Rica (UCR), Alajuela, Costa Rica, América Central. Correo electrónico: ronald.rsr@gmail.com

I. Orígenes

La necesidad de conocer aspectos de la biología de los primates no humanos presentes en Costa Rica (mono congo o aullador (*Alouata palliata*), mono colorado o araña (*Ateles geoffroyi*), mono ardilla (*Saimiri oerstedii*, *Cebus capucinus*)) fue el inicio de estudios en diferentes campos, los cuales resultaron en publicaciones que han contribuido al conocimiento de aspectos poco o nada conocidos de estos animales en el país.

En el campo de la morfometría, por ejemplo, se ha publicado un importante estudio en los monos congo o aullador *Alouata palliata* (Sanchez *et al.*, 2014) y están en prensa dos manuscritos que será incluidos en un libro próximo por publicarse en Venezuela (Sanchez *et al.*, 2016 a, b). En el campo genético han servido de base para otras publicaciones (Zaldívar *et al.*, 2003, Zaldívar *et al.*, 2004, Ruiz-García *et al.*, 2011); en los estudios parasitológicos, se han realizado importantes hallazgos en la endofauna intestinal (Chinchilla *et al.*, 2005; Chinchilla *et al.*, 2010 a-b; Chinchilla *et al.*, 2007), a los que se agregan contribuciones valiosas, como los primeros reportes de la presencia de *Plasmodium brasilianum* (Chinchilla *et al.*, 2006), *Trypanosoma rangeli* (Valerio *et al.*, 2012) y *Trypanosoma minasense* (Chinchilla *et al.*, 2005) en monos de Costa Rica. Existen además estudios en donde se reportan otros organismos que parasitan a estos animales (Calderón-Arguedas *et al.*, 2004), (Gross *et al.*, 2009), (Trovo *et al.*, 2009).

En la mayoría de las publicaciones mencionadas participaron investigadores de la Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica (UCR) y de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). Estos estudios conjuntos dieron como resultado una estrecha relación científica entre el director de la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (ReBAMB), el magister Rónald Sánchez Porras y el grupo de Investigación de la UCIMED que comenzaba a tener preponderancia en esta institución. Mediante esta relación estratégica se inició todo un proceso cuya organización y desglose de frutos obtenidos se esbozan a continuación.

1.1 Inicio del proceso

Con base en conocimientos previos (Chinchilla *et al.*, 2008), obtenidos del estudio de un efecto antiparasitario observado en ciertos extractos de insectos contra el *Plasmodium berghei*, un parásito causante de una malaria murina (Ramesar *et al.*, 1999), se seleccionaron varias plantas para analizarlas por su capacidad antimalárica. Al comprobarse que algunas de esas plantas se encontraban en la ReBAMB, se escribió un proyecto aprobado por la Comisión de Investigación de la Reserva y por las autoridades de la UCIMED. Este primer proyecto fue presentado a un concurso del Fondo de Riesgo para la Investigación (FORINVES) y fue aprobado asignándole el código “FV-018-2007”. El grupo de investigación se dedicó a discutir los protocolos y la organización de todo el programa de trabajo. Posteriormente y con base en los resultados obtenidos en este primer proyecto, el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Telecomunicaciones (MICITT) y el Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) otorgaron el financiamiento de dos proyectos más, con los códigos FI-291-09 y FI-490-11.

1.2. Organigrama de los proyectos principales

-Proyectos de prospección química

En el primer estudio se analizaron varias plantas, debidamente seleccionadas, para buscar componentes activos contra el *Plasmodium berghei*, considerado como un organismo modelo en este tipo de experimentos; *P. berghei* causa una patología similar a la observada para *P. falciparum*, un parásito del ser humano (Ramesar *et al.*, 2008). En el segundo trabajo se analizaron aquellas plantas cuyos componentes químicos eran potencialmente activos contra *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la “Enfermedad de Chagas”, *Leishmania* sp., causante del llamado popularmente “papalomoyo” y *Toxoplasma gondii* productor de la toxoplasmosis en el ser humano. Para los tres proyectos se siguió un esquema general que se muestra en un flujograma (Fig. 1).

-Estudio de roedores

En este proyecto se estudiaron roedores y marsupiales capturados con el objetivo de buscar reservorios de leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, y se aprovechó además para el estudio de los parásitos intestinales y sanguíneos propios de estos hospederos. El flujograma en este caso es el que se presenta en la Figura 2.

II. Materiales y métodos

2.1 Estudios de componentes químicos antiparasitarios en plantas

Los materiales y métodos en detalle han sido descritos en varias publicaciones (Chinchilla *et al.*, 2011, Chinchilla *et al.*, 2016 a, b). En resumen, como se observa en el flujograma 1, se recolectaron varias partes de plantas previamente seleccionadas, este material se transportó al laboratorio cuidadosamente empacado y etiquetado. En el laboratorio se prepararon los extractos frescos y secos para su posterior análisis e identificación de componentes químicos con actividad antiparasitaria. Una vez que se demostró la presencia de tal actividad, las muestras fueron estudiadas químicamente hasta identificar, en forma específica, los componentes activos. La etapa final de esta identificación se realizó con la ayuda de los equipos especializados que se contrataron al Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA) de la UCR.

2.2 Búsqueda de parásitos intestinales y sanguíneos en hospederos de pequeño tamaño

Los detalles de la metodología se encuentran en las publicaciones (Chinchilla *et al.*, 2011, Chinchilla *et al.*, 2016 a, b) y se discuten en la siguiente sección. Los animales fueron capturados usando trampas de madera y cedazo con el cebo adecuado, envuelto y sujeto con hojas y amarras naturales (usualmente de “platanilla”) totalmente biodegradables para evitar cualquier tipo de contaminación ambiental. El lugar de captura fue claramente identificado con el fin de devolver cada ejemplar al sitio exacto, una vez que

se le hacían los estudios del caso. Los animales se llevaron al laboratorio de la Reserva, donde fueron anestesiados, medidos y pesados. Inmediatamente se procedió a la toma de las muestras de heces y sangre, las cuales fueron estudiadas en el laboratorio en búsqueda de los parásitos, de acuerdo con los métodos descritos en las publicaciones indicadas.

III. Resumen y discusión de los resultados obtenidos

3.1 Proyecto con plantas

Se usó el modelo de una malaria murina y se seleccionaron las plantas con base en estudios previos (Chinchilla *et al.*, 2008). Se pudo determinar, tanto *in vitro* (Chinchilla *et al.*, 2011) como *in vivo* (Chinchilla *et al.*, 2011), que las especies de plantas *Aphelandra tridentata*, *Bocconia frutescens*, *Hampea appendiculata*, *Nectandra membranacea*, *Neurolaena lobata*, *Povedadaphne povedae*, *Psidium guajava*, *Siparuna thecaphora*, *Senna papillosa*, *Ticodendron incognitum*, *Witheringia solanacea*, presentaban una actividad antimalárica importante. Esto incrementa el acervo científico de Costa Rica en este campo pues se agrega a la documentación previa existente (Chinchilla *et al.*, 2008). También es un aporte en el nivel mundial, pues a pesar de que existe multitud de publicaciones en esta línea de investigación, algunas de las especies de plantas con actividad antimalárica encontradas en estos estudios, tales como *Bocconia frutescens*, *Clematis dioica* y otras son diferentes de las reportadas en la literatura. Esta línea de investigación se mantiene muy activa, debido al hecho ampliamente conocido de la resistencia que ha adquirido el parásito (*Plasmodium sp*) contra la cloroquina, droga de elección por años en el tratamiento de la malaria en el ser humano (Fidock *et al.*, 2008).

Las plantas *Bocconia frutescens*, *Clematis dioica*, *Cordia megalantha*, *Eugenia austin-smithii*, *Guarea bullata*, *Guatteria tonduzii*, *Nectandra membranacea*, *Neurolaena lobata*, *Povedadaphne povedae*, *Piper auritum*, *Rolliania pittieri*, *Solanum arboreum*, *Tetrorchidium euryphyllum*, *Witheringia*

solanacea, *Zanthoxylum juniperinum*, presentaron actividad contra *L. mexicana*, especie que se empleó en estos experimentos (Chinchilla *et al.*, 2014). Los hallazgos son importantes, si se toma en cuenta que en Costa Rica se encuentra la forma cutánea de la leishmaniasis en varias zonas (Jaramillo *et al.*, 2009) y ya se ha informado al menos de un caso de leishmaniasis visceral en Guanacaste (Carrillo *et al.*, 1999). Por otro lado, para *Trypanosoma cruzi*, agente de la enfermedad de Chagas y para *Toxoplasma gondii* se ha encontrado que algunos componentes de las plantas *Beilschmedia pendula*, *Bocconia frutescens*, *Guarea rhopalocarpa*, *Hydrocotyle mexicana*, *Povedadaphne quadriporata*, *Piper auritum*, *Rugea glabra* y *Xanthosoma undipes* para el primer caso y *Bocconia frutescens*, *Clematis dioica*, *Guatteria tonduzii*, *Povedadaphne quadriporata*, *Sambucus canadiensis*, *Tetrorchidium euryphyllum* y *Xanthosoma undipes* para el segundo, ejercen una actividad lesiva para tales parásitos. En los estudios se demostró que el número de especies de plantas con componentes activos contra los parásitos *T. cruzi* y *T. gondii* es escasa, lo cual concuerda con los estudios famosos al respecto. En cuanto a *T. gondii*, el tratamiento clásico ha sido la combinación de las sulfas con la pirimetamina, (Remesar y Danes, 2009). Sin embargo, estas drogas actúan inhibiendo la síntesis de las bases púricas y pirimidínicas, que son importantes en la generación de los ácidos nucleicos. Es decir, su acción no se circunscribe solo al parásito, sino que también afecta a células en permanente desarrollo, como son las sanguíneas y epiteliales (Villena *et al.*, 1998), por lo que la búsqueda de algún tratamiento alternativo cobra entonces importancia para la salud humana. En todas las plantas estudiadas para los 4 parásitos se han caracterizado químicamente al menos 8 componentes activos, los cuales serán objeto de las correspondientes publicaciones, cuyos manuscritos están en preparación.

3.2 Proyecto con animales pequeños

Se logró determinar que las especies de roedores capturadas fueron *Melanomys caliginosus*, *Heteromys desmarestianus*, *Peromyscus mexicanus* y *Tylomys watsoni*, además del marsupial *Philander opossum*, todos previamente reportados en la ReBAMB. Como se mencionó, uno de los objetivos es la búsqueda de reservorios de *T. cruzi* y *Leishmania* sp. en esta reserva biológica. Sin embargo, aunque se ha encontrado un nuevo transmisor silvestre de la enfermedad de Chagas, el *Triatoma dispar*, (Valerio *et al.*, 2009), no se han podido encontrar, con los métodos y materiales disponibles, ningún reservorio de ambos parásitos. Lo que sí es importante, desde un punto de vista de infección parasitaria, es el hallazgo de organismos intestinales y sanguíneos en los animales en estudio (Chinchilla *et al.*, 2013). Dentro de estos se encuentran *Babesia* sp y *Bartonella* sp que se presentaron en el roedor *M. caliginosus* y *Hepatozoon* sp en *P. opossum*: toda esta información dará origen a otras publicaciones. Es importante destacar el hallazgo de 3 nuevas especies de coccidios, *Eimeria melanomytis* y *E. rebambensis* (Chinchilla *et al.*, 2013 b) y *E. caliginosa* (Chinchilla *et al.*, 2014) que parasitan al roedor *M. caliginosus*.

Estos informes contribuyen al conocimiento de la endofauna de los animales estudiados y constituyen un aporte al conocimiento científico nacional e internacional. El conocimiento adquirido sobre este tipo de parásitos puede ayudar a establecer guías para el manejo y protección de la fauna silvestre en el futuro. Queda mucho por hacer en cuanto a ecto y endofauna de mamíferos y otros grupos zoológicos presentes en la ReBAMB, así como la elucidación del ciclo de vida endógeno de algunos parásitos y la posible patología que se produce en sus hospederos.

Las investigaciones conjuntas en la ReBAMB apenas inician, por lo que quedan pendientes varios estudios con plantas. Por ejemplo, la búsqueda en estas de componentes químicos con actividad antibacteriana y antifúngica, además de otros estudios botánicos en plantas de los géneros *Dracontium*, *Hampea* y *Nectandra*, entre otras.

Está claro que la ReBAMB es un filón científico que ha producido y seguirá produciendo gran cantidad de información científica valiosa. Por otro parte, estos estudios han reunido funcionarios de dos entidades académicas, una estatal, UCR y

otra privada sin fines de lucro, la UCIMED, para construir un grupo de trabajo que al final, ha producido conocimiento que contribuye al bienestar, tanto del ser humano como de la vida silvestre.

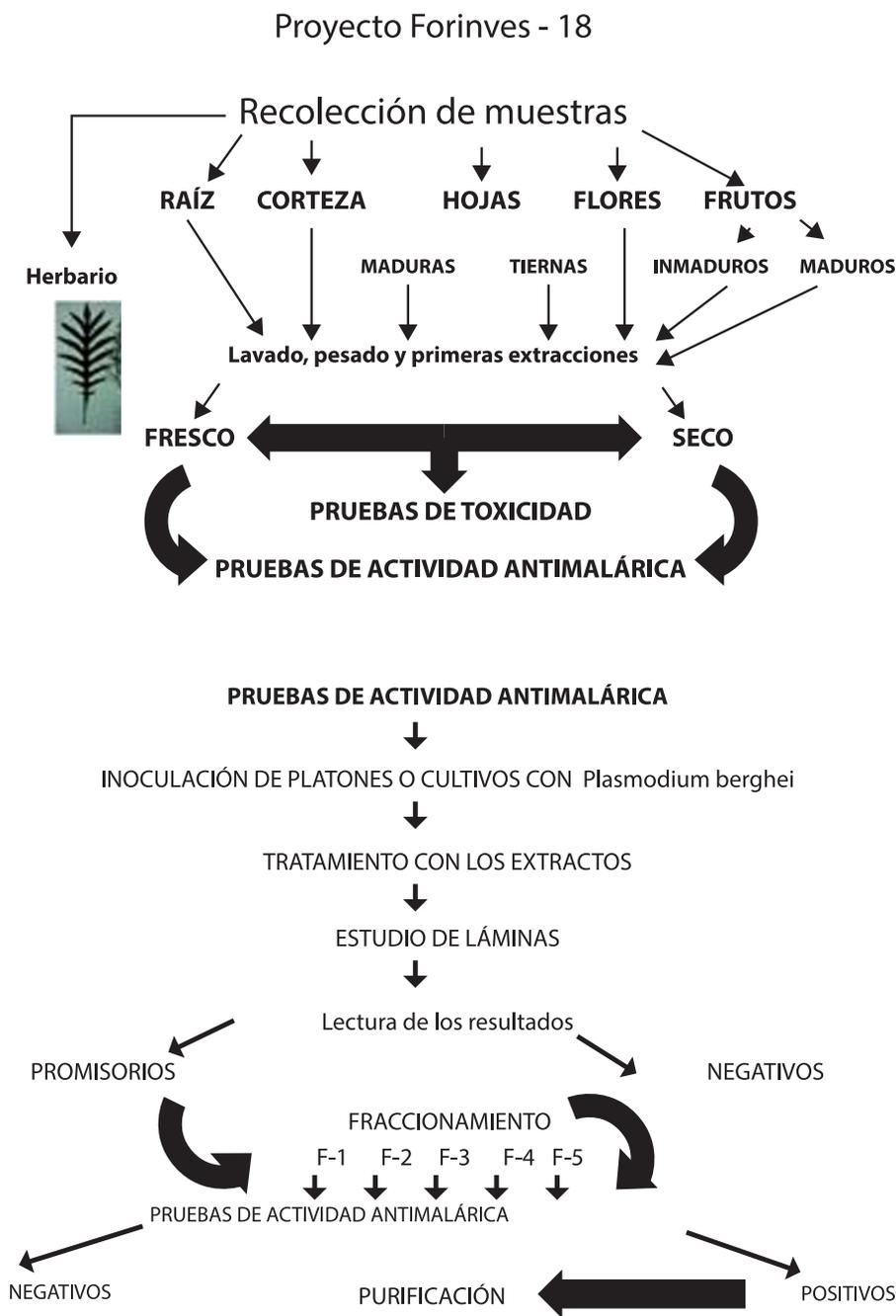


Figura 1. Flujograma del proyecto búsqueda de componentes químicos con actividad antiparasitaria en plantas de la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (ReBAMB).

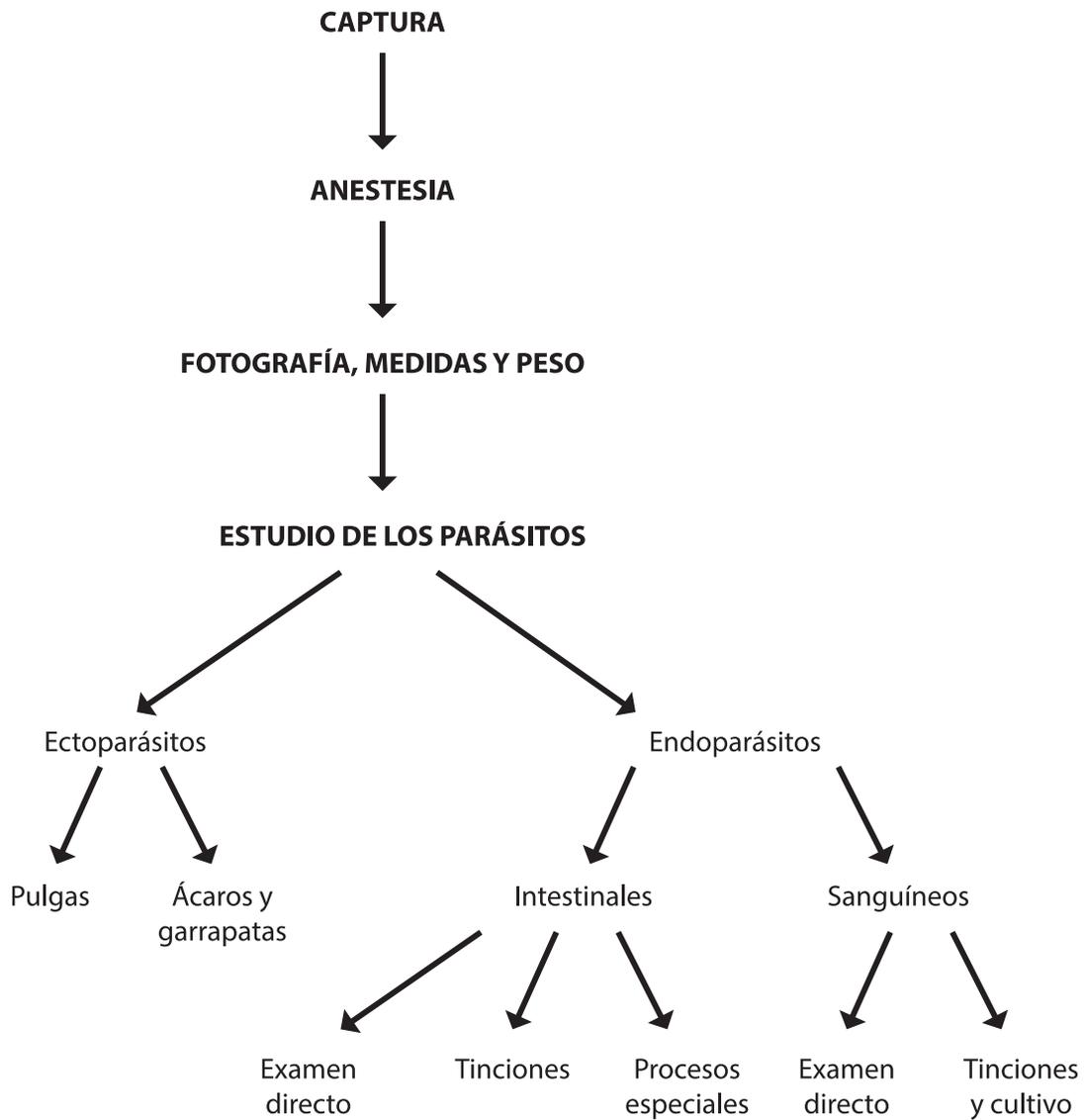


Figura 2. Flujograma del proyecto de estudio de los parásitos intestinales y sanguíneos de pequeños mamíferos de la ReBAMB.

Referencias

- Calderón Arguedas O., Troyo A., Solano M., Sánchez R., Chinchilla M. & Gutiérrez-Espeleta G. (2004). “Infección por larvas de *Alouattamyia baeri* (Diptera: Cuterebridae) en monos aulladores, *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de la Costa Caribe de Costa Rica”. *Neotropical Primates* 12: 21-24.
- Carrillo J., Chinchilla M., Valverde B., Porrás O. y Mora L. (1999) “Visceral Leishmaniasis in Costa Rica: First case report”. *Clin. Inf. Dis.* 29: 678-679.
- Chinchilla M, Guerrero O.M., Gutiérrez G.A., Sánchez R. y Rodríguez B. (2005). “Parásitos intestinales en monos congo *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica”. *Rev. Biol. Trop.* 53: 437-445.
- Chinchilla M., Guerrero O., Gutiérrez G.A y Valerio I. (2007). “Parásitos intestinales en monos carablanca *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae) de Costa Rica”. *Parasitol. Latinoam.* 62: 170-175.
- Chinchilla M., Troyo A., Guerrero O.M., Gutiérrez G. y Sánchez R. (2005). “Presencia de *Trypanosoma minasense* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica”. *Parasitol. Latinoam* 60: 90-92.
- Chinchilla M., Guerrero O.M., Tamayo G., Sittenfeld A., Jiménez A. y Valerio I. (2008). “Concentración natural de compuestos antimaláricos en artrópodos tropicales (*in vitro*)”. *Rev. Biol. Trop.* 56:473-485.
- Chinchilla M., Valerio I., Guerrero O.M., Gutiérrez G. y Sánchez R. (2010). “Infección por parásitos intestinales de monos araña *Ateles geoffroyi* (Primates: Cebidae) en cautiverio de Costa Rica”. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 69 (1): 101-105.
- Chinchilla M., Valerio I., Guerrero O.M., Gutiérrez G.A. y Sánchez R. (2010). “Parasitismo intestinal en monos tití o ardilla *Saimiri oerstedii* (Primates: Cebidae) de Costa Rica”. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 69 (1): 106-111.
- Chinchilla M., Valerio I., Sánchez R., Mora V., Bagnarello V., Martínez L., González A. y Vanegas J.C. (2011). “*In vitro* antimalarial activity of extracts of some plants from a biological reserve in Costa Rica”. *Rev. Biol. Trop.* 60 (2): 881-891.
- Chinchilla M., Valerio I., Sánchez R., Mora V., Bagnarello V., Martínez- L., González A. y Vanegas J.C. (2011). “Evaluación *in vivo* de la actividad antimalárica de 25 plantas provenientes de una reserva de Conservación Biológica de Costa Rica”. *Rev. Chilena de Historia Natural* 84: 115-123.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez, R., Martínez, L., González, A., Valerio, L., Bolaños J. y León, L. (2013). “Parásitos intestinales y sanguíneos de 4 especies de roedores y 5 ejemplares de *Philander oposum* (Didelphimorphia: Dipelphidae) capturados en la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (REBAMB) de Costa Rica”. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol* 72(2): 176-184.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez, R., González, A., Martínez, L. y Duszynski, D. (2013). “Two new *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the dusky rice rat, *Melanomys caliginosus*, Tome 1860, in Costa Rica”. *The Journal of Parasitology.* 99 (1): 82-84.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez, R., González, A., Martínez, L. y Duszynski D. (2014). “A new species of *Eimeria* Scheider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the dusky rice rat *Melanomys caliginosus* (Tomes) (Mammalia: Rodentia) in Costa Rica”. *Systematic Parasitology* 88(2): 181-184.

- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez, R., Bagnarello, V., Martínez L., González, A., Alpízar, M. y Rodríguez, D. (2014). "Actividad contra *Leishmania* sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) de plantas en una Reserva Biológica de Costa Rica". *Rev. Biol. Trop.* 62 (3): 1229-1240.
- Chinchilla M., Valerio I., Sánchez R., Bagnarello V., Alpízar J., Cordero M. y Rodríguez, D. (2016). "Efecto antiparasitario contra *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae) de las plantas de una Reserva Biológica de Costa Rica". *Rev. Latinam-Parasitol.* En prensa.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez R., Bagnarello, V., Alpízar, J., Cordero, M. y Rodríguez, D. (2016). "Actividad antiparasitaria contra *Toxoplasma gondii* (Coccidia Toxoplasmatidae) de plantas de la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (ReMBAM) de Costa Rica". *Revi. Latinoam-Parasitol.* En prensa.
- Fidock D.A., Eastman R.T., Ward S.A. y Meshnick S.R. (2008). "Recent highlights in antimalarial drug resistance and chemotherapy research". *Trends, Parasitol.* 24: 537-544.
- Gross N., Castro J.D., Guerrero O.M., Chinchilla M., Sánchez R., Gutiérrez G.A. (2009). "Yeasts isolated from *Alouatta palliata*, *Ateles geoffroyi*, *Cebus capucinus* and *Saimiri oerstedii* (Primates: Cebidae)". *Neotropical Primates* 16: 64-67.
- Jaramillo O., Espinoza A. y Lobo R. (2009). "Estado actual de la leishmaniosis en Costa Rica". *Acta Médica Costarricense*, 51: 158-164.
- Ramesar J., Jense C. y Waters A. (2008). "Methods in *Plasmodium berghei* Research 4: The *Plasmodium bergei* research model of malaria". (Downloaded: 17 August 2010, <http://www.lumc.nl/rep/cod/redirect/1040/research/malaria/modelll>).
- Remesar G. y Danes I. (2009). "Tratamiento de la toxoplasmosis durante el embarazo. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy". *Med. Clin (Barv)* 133: 763-765.
- Ruiz-García M.I., Castillo M.I., Ledezma A., Leguizamón N., Sánchez T., Chinchilla M. y Gutiérrez G.A. (2011). "Molecular systematics and phylogeography of *Cebus capucinus* (Cebidae, Primates) in Colombia and Costa Rica by means of the mitochondrial COII gene". *Am J Primatol.* 74: 366-80.
- Sanchez R., Chinchilla M., Valerio I. y Vanegas J. (2014). "Variaciones morfométricas de los monos congo o aulladores *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) de Costa Rica". *Rev. Pensamiento Actual Vol.* 14 N°22, PP. 65.
- Sanchez R., Chinchilla M., Valerio I., Vanegas J. (2016). -a. Aspectos morfométricos del mono carablanca *Cebus capucinus* y del mono ardilla *Saimiri oerstedii* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. -b. Análisis morfométrico del mono araña, *Ateles geoffroyi* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. En prensa.
- Troyo A., Solano M., Calderón O., Chinchilla M., Sánchez R. y Gutiérrez G. (2009). "Prevalence of fur mites (*Acari: Atopomelidae*) in non-human primates of Costa Rica". *Rev. Biol. Trop.* Vol 57, n° 1-2: 353-360.
- Valerio I., Chinchilla M. y Sánchez R. (2009). "*Triatoma dispar* nuevo transmisor silvestre de *Trypanosoma cruzi* en Costa Rica: su implicación en la epidemiología de la Enfermedad de Chagas". *Rev. Ibero-Latinoam Parasitol;* 68 (2): 137-141.
- Valerio I., Chinchilla M., Sánchez R. y Gutiérrez, G. (2012). "El mono aullador *Alouatta palliata* (Primates: Cebidae) nuevo reservorio de *Trypanosoma rangeli* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) en Costa Rica". *Brenesia* 78: 96-99.

- Villena I., Aubert D., Leroux B., Dupouy D., Talmud M., Chemla C., Treque T., Schmit G., Quereux C. Guenonou M., Pluot M., Bonhomme A. y Pinon J.M. (1998). "Pyrimethamine-sulfadoxine treatment of congenital toxoplasmosis: follow-up of 78 cases between 1980 and 1997". *Reims Toxoplasmosis Group. Scand J Infect Dis.* 30 (3): 295-300.
- Zaldívar M.E., Glander K.E., Rocha O., Aguilar G., Vargas E., Gutiérrez-Espeleta G y. Sánchez R. (2003). "Genetic variation of mantle howler monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica". *Biotrópica Volume 35, Issue 3, 375–381.*
- Zaldívar M.E., Rocha O., Glander K.E y Aguilar, G. (2004). "Distribution, ecology, life history, genetic variation, and risk of extinction of non-human primates from Costa Rica". *Rev. Biol.* 87