

72
183



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Determinación de Diversos Parámetros para el
Establecimiento del Ciclo de Vida de Fasciola hepatica
Bajo Condiciones de Laboratorio**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MOISES SANCHEZ PIPERNE

Director de Tesis: MVZ, DMV, PhD, Froylán Ibarra Velarde

Asesor: M en C. Gabriela Rico Ferrat

México, D. F.

1986



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAG
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	4
3. OBJETIVOS	7
4. MATERIAL Y METODOS	7
4.1 OBTENCIÓN DE MASAS OVÍGERAS	7
4.2 OBTENCIÓN DE CARACOLES PROGENITORES	8
4.3 MANTENIMIENTO DE LOS CARACOLES	8
4.4 INFECCIÓN DE CARACOLES	9
4.5 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CARACOLES QUE QUEDARON INFECTADOS	10
5. RESULTADOS Y DISCUSION	11
6. CONCLUSIONES	32
7. LITERATURA CITADA	33

INDICE DE CUADROS

NUMERO DE CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS INFECTADOS CON MIRACIDIOS DE FASCIOLA HEPATICA.	1	19
NÚMERO DE CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS LIBERADORES DE CERCARIAS DE FASCIOLA HEPATICA.	2	20
PRODUCCIÓN DE METACERCARIAS DE FASCIOLA HEPATICA LIBERADAS POR LOS CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS.	3	21
DATOS DE MORTALIDAD PARA LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS.	4	22
DISECCIÓN DE CARACOLES MUERTOS NEGATIVOS O POSITIVOS A LA INFECCIÓN CON MIRACIDIOS DE FASCIOLA HEPATICA.	5	23
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS INFECTADOS CON MIRACIDIOS DE FASCIOLA HEPATICA.	6	24
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS LIBERADORES DE CERCARIAS DE FASCIOLA HEPATICA.	7	25
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA PRODUCCIÓN DE METACERCARIAS DE FASCIOLA HEPATICA LIBERADAS POR LOS CARACOLES LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS.	8	26
ANÁLISIS DE VARIANZA DE MORTALIDAD PARA LYMNAEA BULIMOIDES, L. CUBENSIS Y L. HUMILIS AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO.	9	27

	No.	PAG
DATOS DE LOS CARACOLES <i>L. BULIMOIDES</i> , <i>L. CUBENSIS</i> Y <i>L. HUMILIS</i> EN COMPARACIÓN CON EL NÚMERO DE CARACOLES EXPUESTOS A INFECCIÓN, NÚMERO DE CARACOLES INFECTADOS, NÚMERO DE CARACOLES LIBERADORES Y NÚMERO DE METACERCARIAS OBTENIDAS EN LAS DIFERENTES EDADES DE LOS LIMNEIDOS.	10	28
DATOS DE LA PRODUCCIÓN DE METACERCARIAS LIBERADAS POR <i>L. BULIMOIDES</i> , <i>L. CUBENSIS</i> Y <i>L. HUMILIS</i> EN CUATRO EXPOSICIONES.	11	29
DATOS DEL NUMERO TOTAL DE CARACOLES INFECTADOS, LIBERADORES Y NUMERO TOTAL DE METACERCARIAS OBTENIDAS EN LAS DIFERENTES SEMANAS DE EDAD EN LAS TRES ESPECIES DE LIMNEIDOS TRABAJADAS.	12	30
DATOS DEL NÚMERO DE CARACOLES MUERTOS ANTES Y DESPUÉS DE CADA EXPOSICIÓN EN <i>L. BULIMOIDES</i> , <i>L. CUBENSIS</i> Y <i>L. HUMILIS</i> .	13	31

I N T R O D U C C I O N

Se conoce con el nombre de fasciolosis a la enfermedad causada por cualquiera de las especies del género Fasciola: F. hepatica, F. gigantica, F. magna y F. indica (2, 21, 39, 42).

A esta parasitosis también se le conoce con los siguientes sinónimos: Distomatosis (12,14), mariposa del hígado (2), palcmilla del hígado (12,13) gusano del hígado (26), duela del hígado (8), podredumbre del hígado (26), sanguijuela del hígado (12), acuecuyachi en lengua azteca (12), papa o papilla, coscojo (36), mal de botella, conchuela, orijuela (12,13), etc.

Fasciola hepatica es un helminto hermafrodita de la clase tremátoda, familia Fasciolidae; su cuerpo, dorsoventralmente aplanado es de color rojo oscuro o café pardusco y su forma asemeja a la de una hoja; en el extremo anterior presenta un cuello cónico que después se ensancha abruptamente y forma lo que en ocasiones se denomina "hombros". Posee dos ventosas; una oral en la punta de la prominencia cónica y otra, medio ventral que se encuentra debajo de los hombros. En la parte inferior del parásito, la epidermis está provista de pequeñas y agudas espinas córneas en toda su superficie. Cuando Fasciola hepatica está totalmente desarrollada puede medir 30 mm de largo por 13 mm en su parte más ancha (26,39).

La fasciolosis afecta a los animales domésticos, salvajes y ocasionalmente al hombre (14,20,27,40), cuando éste se alimenta de verduras o berros mal lavados y sin cocer. El tremátodo Fasciola hepatica invade el

hígado y conductos biliares (2,24,26), causando trastornos digestivos y nutricionales (14). La importancia de esta enfermedad radica en las cuantiosas pérdidas económicas que ocasiona, las cuales pueden ser clasificadas en directas o indirectas; se considera como pérdida directa la muerte del animal parasitado y como indirecta la que resulta de la acción menos severa, pero no por esto menos importante del parásito sobre el ganado, como son: baja producción de leche (2), baja producción de lana (34), retardo en el crecimiento (41), descenso en el peso corporal (6,7), decomiso total o parcial de los hígados en los rastros (18,19,35,38) y abortos con los consecuentes trastornos reproductivos (26,32). Se considera que son las pérdidas indirectas, las que tienen mayor importancia económica para el ganadero, puesto que la pérdida directa por muerte del animal, en México no es muy frecuente.

La enfermedad se presenta en donde las condiciones ecológicas son favorables para el desarrollo de los caracoles anfibios huéspedes intermedios de este tremátodo (29). En México, se encuentra en el litoral del Golfo y del Pacífico, en los Valles del Altiplano, así como en las llanuras del norte, con mayor o menor incidencia dependiendo de los factores ecológicos que intervienen en el ciclo de vida del parásito (31). Los caracoles que actúan como huéspedes intermedios pertenecen a los géneros; Lymnaea, Fossaria, Galba, Pseudosuccinea, etc. (30,33). En México, las especies del género Lymnaea que se han descrito son: L. bulimoides, L. cubensis, L. columella y L. humilis (25).

Los factores básicos del ciclo de vida de este parásito se conocen desde hace mucho tiempo, pero las investigaciones experimentales en detalle se han dado a conocer hace sólo dos décadas. El ciclo biológico de este tremátodo, descrito por Linneo en 1753 (3), se realiza de la siguiente manera: los huevos (embriones encapsulados) producidos por el parásito adulto, que vive alojado en los conductos biliares del ganado, se almacenan en la vesícula biliar donde se les encuentra en grandes cantidades; éstos son arrojados con la bilis al intestino, desde donde salen junto con las heces. Los huevos para poder sobrevivir tienen por necesidad que ser depositados en charcos, lagunas, arroyos de curso lento u otras formas de aguas estancadas; una vez en estos lugares, si la temperatura se encuentra entre 10 y 20°C el embrión eclosiona, después de 3 semanas, brota de su cápsula y se transforma en una larva ciliada llamada miracidio, que nada con ayuda de sus cilios, este miracidio tiene forzosamente que encontrar dentro de las primeras 24 horas de su vida, a un caracol de la especie adecuada, penetra en él parasitándolo y convirtiéndose, una vez dentro, en otra larva microscópica conocida como esporocisto en forma de saco, la cual da origen, dentro de su propio organismo, a otras estructuras llamadas redias, que representan la tercera fase larvaria, éstas abandonan el esporocisto y se dirigen a la glándula digestiva (hepatopáncreas) del caracol, huésped intermediario, en donde se transforman en cercarias, todo esto sucede dentro del caracol en un tiempo aproximado de 5 a 8 semanas; las cercarias salen del caracol abandonándolo y nadando activamente en el agua, hasta encontrar una superficie donde adherirse, generalmente so-

bre plantas verdes, en las que forman un pequeño quiste del tamaño de un grano de sal que se conoce con el nombre de metacercaria, esta forma enquistada es capaz de infectar a un huésped definitivo cuando inadvertidamente es ingerida con la vegetación que sirve de alimento. El patrón de su ciclo biológico muestra una serie de adaptaciones que aseguran la perpetuación de Fasciola hepatica como un parásito de animales de pastoreo o que se alimentan en terrenos pantanosos (8,26,39).

ANTECEDENTES

Carballo y colaboradores (4) reprodujeron experimentalmente el ciclo evolutivo de F. hepatica, utilizando como huésped intermediario a Lymnaea viator. Estos autores sólo analizaron el desarrollo de miracidios y el desarrollo larvario intramolusco, sin mencionar el origen de los miracidios, ni la longitud, ni la edad de los caracoles que fueron infectados.

Por otro lado se han realizado más estudios relacionados con el ciclo de vida de F. hepatica, por ejemplo: Isseroff y Smith (22) infectaron a caracoles Lymnaea cubensis de 3 a 5 mm de longitud puestos en agua que contenía de uno a tres miracidios, permaneciendo éstos durante una hora para observar la penetración del miracidio. Flagstad y col. (16) realizaron infecciones de caracoles Lymnaea tomentosa de tres a cuatro semanas de edad con miracidios de origen ovino y dos semanas después se realizaron las disecciones encontrando esporocistos y redias del parásito. Jiménez y Guevara (23) infectaron a caracoles Lymnaea (Galba) truncatula

con 5 a 10 miracidios por caracol, teniendo éstos diferencia de una semana de edad durante 12 semanas; las observaciones demostraron la influencia que tiene la edad de los limneidos para su infestación con miracidios de F. hepatica, puesto que a la cuarta semana fue cuando se produjo la mayor infección. Cabe hacer notar que en el manual de parasitología veterinaria (28) mencionan que el tamaño adecuado para la infestación de caracoles de esta misma especie es de 2 a 3 mm de longitud, alrededor de las tres semanas de edad.

Foreyt y Todd (17) realizaron infecciones experimentales con miracidios de Fascioloidea magna y F. hepatica encontrando que en 5 especies de limneidos de Wisconsin (L. caperata, L. humilis, L. palustris, L. stagnalis y L. umbrosa) el miracidio de Fasciola hepatica penetra pero no se producen cercarias, mientras que en 7 de 35 L. bulimoides (no citan lugar de colecta) recobran cercarias del tremátodo. Coil (9) demuestra la susceptibilidad de L. bulimoides a Fasciola hepatica y el mismo Coil (10) realiza estudios más finos respecto a la penetración del miracidio del helmineto en este caracol. Cruz (11) infectó a Pseudosuccinea columella de Louisiana U.S.A. encontrando una susceptibilidad del 51.3% contra 15.2 y 26.4% de Fossaria Bakerilymnaea cubensis de Louisiana de dos poblaciones distintas, bajo condiciones de laboratorio.

Santos (37) trabajando con caracoles Fossaria (Fossaria) humilis encontró redias y cercarias de F. hepatica en los meses de agosto (13.8%), septiembre (25.2%) y Octubre (3.6%) en el municipio de Atlagatepec, Tlaxcala. Esta misma especie fue sometida a infección experimental individual, en ocho lotes y cuando los caracoles alcanzaron un promedio de -

2.5mm de longitud, cada caracol fue infectado con 3 miracidios obteniendo un porcentaje mayor y menor de 90 y 75% respectivamente. Escudero y Flores (15) evaluaron la susceptibilidad de tres especies de caracoles: Lymnaea (Fossaria) humilis, Lymnaea (Fossaria) cubensis y Lymnaea Fossaria bulimoides a las cinco semanas de edad y con infección masiva e individual utilizando miracidios de huevos de F. hepatica de origen bovino y ovino, sus resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre el origen del huevo pero sí entre las especies de caracoles. Alcibar (1) infectó a Lymnaea cubensis de Tullancingo, Hidalgo de 4 a 6 semanas de edad con 8 a 10 miracidios por caracol, 100 caracoles con miracidios de origen bovino y 100 con miracidios de origen ovino, obteniendo ocho caracoles liberadores, de origen bovino y dos de origen ovino, no encontrando diferencias significativas al realizar el análisis estadístico, debido a la variada producción de cada uno de los caracoles que fueron desde 3 hasta 906 metacercarias.

El conocimiento sobre aspectos relacionados a la ecología, la nutrición, la distribución, la edad adecuada de infección, así como infectividad de las metacercarias liberadas por el caracol y la variación estacional de estos moluscos huéspedes intermediarios de Fasciola hepatica es limitado en México. De ahí que en el Proyecto Fasciolosis, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) de la SARH, existan diversos bosquejos experimentales con el fin de esclarecer estas dudas. El presente trabajo pretende dilucidar algunas de estas incógnitas.

OBJETIVOS

- a) Determinar la edad propicia para la infección de los caracoles L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis con miracidios de Fasciola hepatica - bajo condiciones de laboratorio.
- b) Determinar qué técnica de infección (masiva o individual) es la más - adecuada para exponer a los caracoles que quedaron vivos a liberar cer-
carias.
- c) Determinar dentro de las 3 especies de caracoles en estudio, cuál es - la mejor productora de metacercarias.
- d) Determinar la susceptibilidad de las 3 especies de caracoles a la in-
fección con miracidios de Fasciola hepatica.

MATERIAL Y METODO

La preparación de los cultivos de limneidos y el material utilizado - en la investigación se describe a continuación:

Obtención de masas ovíferas.-

De los caracoles adultos colectados en Tulancingo, Hidalgo se coloca-
ron 50 de la especie L. bulimoides, 50 L. cubensis y 50 L. humilis, en me-
dios de cultivo. En cada caja de petri (medio de cultivo) se colocaron 5
caracoles, quedando poblaciones de 10 cajas por especie haciendo un total
de 30 cajas.

Las masas ovíferas que se obtuvieron de estas tres especies se colo-
caron en cajas de petri de vidrio con agua de la llave y se mantuvieron -
dentro de un rango de temperatura de 20 a 25°C hasta la eclosión de los -
caracoles. Con estos moluscos recién eclosionados se obtuvieron los lo-
tes experimentales.

Obtención de los caracoles progenitores.-

En cada caja de petri se colocaron 40 caracoles siendo el número total de 10 cajas por especie, es decir, 400. El primer cambio a otras cajas se realizó a la semana de haber iniciado el cultivo reduciendo el número de caracoles a 30 por caja. A partir de este momento los cambios se realizaron 3 veces por semana; al inicio de cada semana la cantidad de caracoles se reducía, para que la densidad de la población no representara un factor de competencia por el alimento. De esta forma, a la 2a. semana el número de moluscos fue de 20 por caja, a la 3a. semana 15, a la 4a. semana 10, y 5 caracoles por caja a la 5a semana; esta cantidad se mantuvo constante durante la obtención de las masas ovígeras. De estas masas ovígeras se obtuvieron las cepas de los caracoles experimentales cada 15 días para formar 5 cultivos de cada especie con una diferencia entre sí de 2 semanas de edad, estos limneidos se mantuvieron en desarrollo en medios de cultivo hasta que reunieron las condiciones deseadas para la infección (2,4,5,8 y 14 semanas), el número de caracoles por cultivo de cada especie fue de 70, formando 10 lotes experimentales y 4 lotes testigos, en los cuales, se colocaron 5 caracoles, haciendo un total de 42 lotes por cultivo.

Mantenimiento de los caracoles.-

Los medios de cultivo consistieron en una caja de petri de plástico de 20x95mm conteniendo una capa lodosa de 5 mm de grosor y alga del género Oscillatoria sp que crece en esa capa lodosa, estimulando su crecimiento con iluminación constante durante 48 horas. En cada caja (medio de cultivo) se colocaron los caracoles para su mantenimiento; los moluscos -

se cambiaron 3 veces por semana a otros medios de cultivo, manteniendo la humedad de éstos (agregando agua de la llave con una piceta de plástico), también se anotaba el número de caracoles vivos, número de masas ovígeras y presencia o ausencia de heces fecales en cada lote.

Infección de caracoles.-

Para realizar la infección se colectaron vesículas biliares de ovinos fasciolosos sacrificados en el rastro municipal de Tulancingo, Hgo., las vesículas fueron trasladadas a la Unidad Central en Palo Alto, D.F. en bolsas de plástico; los huevos de F. hepatica fueron obtenidos mediante diversos lavados y decantaciones, siendo colocados en cajas de Petri, en agua e incubados a una temperatura de 20 a 22°C por aproximadamente - 15 días hasta su utilización. Cuando los 5 cultivos de las tres especies de caracoles reunieron las condiciones adecuadas para la infección, los - huevos incubados de F. hepatica se expusieron a la luz de un foco de 100 watts colocado a unos 20 cm de altura, los miracidios eclosionaron unos minutos después de la exposición.

La infección se realizó en dos formas, masiva e individual:

- a) Forma masiva.- Se colocaron 25 caracoles en un cristalizador conteniendo 200 ml de agua destilada y con ayuda de pipeta Pasteur se adicionaron 125 miracidios.
- b) Forma individual.- Esta consistió en colocar cada caracol en un frasco de ampolleta con capacidad de 20 ml con agua destilada adicionándole 5 miracidios.

Los caracoles tanto de infección masiva como individual permanecieron expuestos a la penetración (infección) de miracidios durante 4 horas,

pasado este tiempo los moluscos fueron regresados a sus respectivos medios de cultivo.

A los caracoles del lote testigo se les hizo el mismo procedimiento pero sin adicionar los miracidios.

Determinación del número de caracoles que quedaron infectados:

a) Muertos durante el período prepatente (aproximadamente 20 a 35 - días). Después de la infección con miracidios de F. hepatica, los caracoles se revisaron 3 veces por semana y los que morían se disecaban inmediatamente con el fin de buscar formas larvarias del parásito (esporocisto, redias y/o cercarias). Para esto, las partes blandas se retiraron de la concha y los tejidos se desgarraban con agujas de disección haciendo una primera observación bajo el microscopio estereoscópico; si no se observaban estadios larvarios del parásito, los tejidos se colocaban entre portaobjeto y cubreobjeto observando en el microscopio compuesto y anotando el número de caracoles que presentaban formas larvarias de Fasciola hepatica.

b) Liberadores. Después de 35 días de la exposición con miracidios, las fases larvarias de Fasciola hepatica evolucionaron a cercarias dentro del caracol, fue entonces el momento para exponerlos a la liberación de cercarias; para esto se sometió a los moluscos a cambios bruscos de temperatura, colocándolos en refrigeración de 5 a 10 minutos, enseguida se colocaron individualmente en bolsitas de polietileno con capacidad de 80 ml de volumen, con 40 ml de agua de la llave, inmediatamente después se colocaron bajo un foco de 100 watts durante 24 horas. Pasado este tiempo los caracoles que liberaron cercarias, se marcaron con el fin de poder conocer

el número total de metacercarias liberadas por cada cultivo; los moluscos se expusieron a la liberación de cercarias una vez por semana durante 28 días.

Las metacercarias obtenidas se dejaron 48 horas a temperatura ambiente, inmediatamente después se contaron con un contador manual y se guardaron en el refrigerador a una temperatura de 4°C para su posterior utilización, llevando un registro del número de metacercarias liberadas por cada caracol durante el experimento; por otra parte, se llevó el registro del total de metacercarias obtenidas en cada exposición.

Evaluación estadística de resultados.

Se realizó un estudio de análisis de varianza y prueba de Duncan, posteriormente estos resultados se llevaron a un cuadro general.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los parámetros tomados en cuenta en el presente trabajo fueron: infección de caracoles, moluscos liberadores, producción de metacercarias y mortalidad; con el fin de determinar cómo influyen en la edad, en la especie, en la exposición y en el método de infección.

A continuación se describen los resultados obtenidos; en los cuadros 1,2,3 y 4 se muestran respectivamente los datos, referentes al número de caracoles que quedaron infectados al exponerlos con miracidios de Fasciola hepatica, número de liberadores, número de metacercarias y número de muertos durante el experimento.

Al hacer el estudio del análisis de varianza con los datos mencionados no se encontraron diferencias significativas ($\alpha > 0.01$) por el método de infección (masiva e individual)

En el cuadro 5 se puede ver claramente los datos del número de limneos a los cuales no se les encontraron formas larvarias de Fasciola hepatica y a los que se les encontraron cercarias del parásito al practicarles la disección. El cuadro 6 muestra el análisis de varianza de L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis infectados con miracidios de Fasciola hepatica en el cual se ve que hubo diferencias significativas según la edad ($\alpha < 0.01$), especie ($\alpha < 0.01$) y la interacción ($\alpha < 0.05$) siendo los valores de F de 23.28, 63.60 y 3.39 respectivamente.

Los análisis de varianza de L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis - liberadores de cercarias del tremátodo se muestran en el cuadro 7. En él se observan las diferencias que hubo según la edad ($\alpha < 0.01$) y la especie ($\alpha < 0.01$).

La especie que mayor número de liberadores presentó fue L. humilis seguida de L. bulimoides y la última L. cubensis. Respecto a la edad, el número de liberadores fue disminuyendo conforme la edad de los caracoles aumentaba.

En cuanto a la producción de metacercarias de este parásito, se encontró una diferencia significativa ($\alpha < 0.01$) según la edad, especie y según las interacciones de método por edad, método por especie, edad por especie y método por edad por especie. Este análisis de varianza se presenta en el cuadro No. 8.

El cuadro 9 muestra el análisis de varianza de la mortalidad para L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis, en él se ve que la infección es la que mata a los caracoles ya que el valor de F fue de 145.9. También se observa que la mortalidad es diferente según la edad ($\alpha < 0.01$), la espe

cie ($\alpha < 0.01$) y según las interacciones edad por especie ($\alpha < 0.01$), edad por infección ($\alpha < 0.05$), especie por infección ($\alpha < 0.01$), método por especie por infección ($\alpha < 0.05$).

En el cuadro 10 se muestran en forma comparativa los datos de número de caracoles expuestos a la infección, número de infectados, número de liberadores y número de metacercarias obtenidas, para las 3 especies de caracoles trabajados. En él se observa que la infección es diferente entre las tres especies de limneidos, resultando L. humilis la más susceptible a la infección y con mayor número de metacercarias. En relación a la edad en que se realizó la infección, se observa que el número de infectados, número de liberadores y producción de metacercarias fue mayor a las dos semanas; también se advierte que en L. bulimoides y L. cubensis el número de moluscos infectados va disminuyendo conforme aumenta la edad, mientras que en L. humilis el número de caracoles infectados es casi constante en las diferentes edades (2,4,6,8 y 10 semanas).

Tomando como criterio el mayor número de caracoles infectados, liberadores y mayor número de producción de metacercarias en las 3 especies de limneidos con que se trabajó; se observa que a las 2 semanas de edad es cuando mejor se infectan (ver cuadro 10 y 12).

Los datos de la producción de metacercarias obtenidas en las 4 exposiciones de las 3 especies de moluscos se muestran en el cuadro 11; en él se ve claramente que la mayor producción de metacercarias fue en la tercera exposición, es decir a la séptima semana después de la infección, en la primera exposición se obtuvieron 521, 8 y 4 metacercarias respectivamente en L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis. La segunda y cuarta exposicio

nes produjeron un número semejante de metacercarias en L. bulimoides y L. humilis, encontrando menor número en L. cubensis. Lymnaea humilis - fue la especie de la que se obtuvo en total un mayor número de metacercarias, después le siguió L. bulimoides y por último L. cubensis. También en el cuadro 11 se ven las diferencias que hubo entre el número de metacercarias emitidas en las 4 exposiciones, puesto que se evidenció una mayor emisión de metacercarias en la tercera exposición (7a. semana) y una menor en las restantes (1a, 2a y 4a exposiciones). Si se comparan estos valores con los obtenidos por Jiménez-Albarrán y Guevara-Pozo 23) en L. (Galba) truncatula se ve que hay semejanzas, ya que ellos encuentran la mayor liberación a la 8a. semana (y menor a la 6a, 10a y - 12a), siendo similar a los datos encontrados en esta investigación con las 3 especies trabajadas.

Los datos del número de caracoles muertos antes y después de cada exposición de las 3 especies de limneidos se presentan en el cuadro 13, en él se observa que la mortalidad aumenta conforme aumenta la edad en infección y exposición, es decir; los infectados a las 8 y 10 semanas de edad mueren más que los infectados a las 2, 4 y 6 semanas, también antes de exponerlos a la liberación de cercarias, hay menos muertos que en la primera exposición y menos que en las restantes (2a, 3a y 4a) exposiciones. El experimento se dio por finalizado en la 4a. exposición, cuando los limneas alcanzaron 8 semanas de edad después de la infección, debido a la alta mortalidad que se presentó en esa fecha.

En el experimento realizado se observó que L. bulimoides fue la especie que mejor resistió a la mortalidad causada por la infección y a -

Las condiciones de mantenimiento a que se sometieron las 3 especies de caracoles, después le siguió L. humilis y en la que mayor número de - muertos ocurrió fue en L. cubensis.

El porciento de susceptibilidad a la infección con miracidios de Fasciola hepatica encontrados en otros grupos de trabajo y en el presente se describen a continuación.

1.- Los porcentajes de susceptibilidad encontrados en este trabajo (utilizando miracidios de origen ovino), son los siguientes:

SEMANAS	<u>L. bulimoides</u>	<u>L. cubensis</u>	<u>L. humilis</u>
2	72%	64%	76%
4	56%	30%	80%
6	26%	8%	78%
8	16%	10%	66%
10	3%	4%	56%

2.- Escudero y Flores (15) infectaron con miracidios de origen bovino y ovino a L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis de 5 semanas de edad, obteniendo los siguientes porcentajes de susceptibilidad.

ORIGEN	<u>L. bulimoides</u>	<u>L. cubensis</u>	<u>L. humilis</u>
BOVINO	34%	4%	92%
OVINO	28%	2%	96%

3.- Alcibar (1) infectó a L. cubensis de 4 a 6 semanas de edad, obteniendo 8% de susceptibilidad con miracidios de origen bovino y 2% con miracidios de origen ovino.

- 4.- Cruz (11) encontró 15.2% y 26% en Fossaria Bakerilymnaea cubensis de Louisiana U.S.A. de dos poblaciones distintas (bajo condiciones de laboratorio).
- 5.- Santos (37) infectó experimentalmente a Fossaria (Fossaria) humilis de 2.5mm de longitud en promedio (no menciona el origen de los miracidios), encontrando un mayor porcentaje de 90.9% y un menor de 75% en las dos repeticiones del experimento.

Comparando los porcentajes de susceptibilidad a la infección con miracidios de Fasciola hepatica en L. bulimoides, L. cubensis y L. humilis en esta investigación se ve que a las 2 semanas de edad fue en donde se obtuvo el mayor porcentaje de susceptibilidad, resultando menor conforme aumenta la edad en que se infectó, también se advierte que L. humilis fue la especie en la que se encontró el más alto porcentaje de susceptibilidad después le sigue L. bulimoides y en último lugar L. cubensis. El mayor porcentaje encontrado fue de 80% a las 4 semanas de edad en L. humilis y el menor fue de 4% en L. cubensis de 10 semanas de edad.

Ahora, confrontando ^{2/}porcentaje de susceptibilidad (con miracidios de origen ovino), obtenidos por Escudero y Flores (15), con los encontrados a la 4a. semana de edad en la presente investigación, se observa que hay muchas diferencias en el porcentaje en cada una de las 3 especies de caracoles. Sin embargo, comparándolos con los encontrados a la 6a. semana se ve que no hay tanta diferencia en L. bulimoides, pero sí en L. cubensis y L. humilis; encontrando en las relaciones anteriores un alto porcentaje similar en L. humilis y menor en L. cubensis.

Cotejando el por ciento en L. cubensis de 4 y 6 semanas de edad del presente trabajo con el de Alcibar (1), se advierte que hay diferencia.

El porcentaje obtenido por Cruz (11) en Fossaria Bakerilymnaea cubensis y los encontrados por Alcibar, Escudero y Flores y los del presente trabajo referentes a L. cubensis, no se pueden parangonar pero sí nos pueden dar una idea de que puede encontrarse un menor porcentaje de susceptibilidad en L. cubensis en comparación con L. humilis y L. bulimoides.

Tampoco se puede hacer una comparación de la susceptibilidad encontrada por Santos (37), con los de Escudero y Flores, ni con los de la presente investigación referente a L. humilis, pero sí nos puede dar la idea de que esta especie es la más susceptible a la infección con miracidios de Fasciola hepatica.

También se puede hacer otro tipo de equiparación de la susceptibilidad de L. cubensis, en relación al origen de los miracidios con los trabajos de Alcibar, et al. (1) y con el de la investigación realizada, advirtiendo que los porcentajes de susceptibilidad con miracidios de origen ovino y bovino encontrados por Alcibar et al. (1), son iguales, mientras que el porcentaje de susceptibilidad con miracidios de origen ovino encontrados por Alcibar (1) y Escudero y Flores (15) con los del presente trabajo son diferentes.

Tomando en cuenta las comparaciones realizadas se puede concluir que el origen de los miracidios en la susceptibilidad a la infección de los caracoles limneidos no influye, mientras que L. humilis además de ser la especie (de los trabajados) más susceptible a la infección fue la especie con mayor número de liberadores, mayor número de metacercarias -

liberadas, y no hubo diferencias con respecto a la edad a la que se infectó, por lo cual se recomienda esta especie para producción masiva - de metacercarias, teniendo el inconveniente de ser la especie que ocupó el segundo lugar en mortalidad. Sin embargo, también sería importante trabajar ya sea esta especie o comparativamente con L. bulimoides y L. cubensis con miracidios de origen ovino, ya que hay estudios que mencionan que la susceptibilidad de ovino a metacercarias de origen ovino es mayor que a metacercarias de origen bovino, así como la de bovino para metacercarias de origen bovino más que de ovino (Alcibar, 1).

CUADRO No. 1

NUMERO DE CARACOLES Lymnaea bulimoides, L. cubensis y L. humilis INFECTADOS CON MIRACIDIOS DE Fasciola hepatica.

EDAD EN SEMANAS	INFECCION INDIVIDUAL			INFECCION MASIVA		
	<u>L.bulimoides</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>	<u>L.bulim.</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>
2	5	3	2	2	3	5
	4	2	3	4	2	4
	3	3	4	4	4	4
	3	4	3	4	5	5
	3	2	4	4	4	4
4	2	2	4	0	0	3
	3	2	5	5	2	5
	1	3	2	5	3	2
	2	0	4	3	1	5
	4	2	5	3	0	5
6	0	0	5	2	0	5
	1	1	3	2	0	5
	0	2	5	2	0	3
	2	0	3	2	0	2
	1	0	5	1	1	3
8	0	1	3	1	0	5
	0	0	3	1	0	3
	0	0	5	0	0	1
	4	1	4	0	1	3
	0	1	3	2	1	3
10	1	1	3	0	0	5
	0	0	3	1	0	2
	0	0	3	0	0	3
	1	0	0	0	0	0
	1	0	5	0	1	4

CUADRO No. 2

NUMERO DE CARACOLES Lymnaea bulimoides, L. cubensis Y L. humilis LIBERADOS DE CERCARIAS DE Fasciola hepatica.

EDAD EN SEMANAS	INFECCION INDIVIDUAL			INFECCION MASIVA		
	<u>L.bulimoides</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>	<u>L.bulimoides</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>
2	3	3	2	2	2	4
	4	0	2	4	1	4
	3	3	2	3	2	5
	2	1	3	3	5	3
	3	1	3	4	3	4
4	2	1	2	0	0	1
	2	2	4	4	0	2
	1	3	2	4	3	2
	1	0	3	3	1	4
	3	2	4	2	0	0
6	0	0	4	2	0	2
	1	1	2	2	0	3
	0	0	3	1	0	2
	1	0	1	2	0	1
	0	0	4	1	1	2
8	0	0	1	1	0	3
	0	0	2	1	0	0
	0	0	5	0	0	0
	3	1	3	0	1	1
	0	1	1	2	0	2
10	1	1	0	0	0	0
	0	0	0	1	0	0
	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	0
	1	0	2	0	1	1

CUADRO No. 3

PRODUCCION DE METACERCARIAS DE Fasciola hepatica LIBERADAS POR LOS CARACOLES Lymnaea bulimoides, L. cubensis y L. humilis.

EDAD EN SEMANAS	INFECCION INDIVIDUAL			INFECCION MASIVA		
	<u>L. bulimoides</u>	<u>L. cubensis</u>	<u>L. humilis</u>	<u>L. bulimoides</u>	<u>L. cubensis</u>	<u>L. humilis</u>
2	3062	614	1201	2515	239	3976
	3165	000	2829	3362	168	5518
	2093	8842	2794	2241	930	5140
	740	766	2010	2434	3728	176
	1118	753	970	2207	2341	4223
4	1314	3	1714	0000	000	16
	1180	1758	2913	1760	000	2215
	1413	1009	1078	1845	1753	149
	694	000	1109	975	890	165
	279	352	3472	1983	000	000
6	0000	000	1897	1157	000	834
	89	203	475	580	000	570
	0000	000	2081	384	000	1432
	589	000	858	464	000	2
	0000	000	1749	426	620	56
8	0000	000	68	1045	000	1892
	0000	000	485	92	000	0000
	0000	000	3131	0000	000	0000
	1357	3	1845	0000	228	1162
	0000	14	178	1353	000	126
10	419	888	0000	0000	000	0000
	0000	000	0000	658	000	0000
	0000	000	0000	0000	000	603
	1182	000	0000	0000	000	0000
	500	000	726	0000	184	285

CUADRO No. 4

DATOS DE MORTALIDAD PARA Lymnaea bulimoides, L. cubensis y L. humilis AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO

	EDAD EN SEMANAS	INFECCION INDIVIDUAL			INFECCION MASIVA		
		<u>L.bulimoides</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>	<u>L.bulimoides</u>	<u>L.cubensis</u>	<u>L.humilis</u>
CARACOLES NO INFECTADOS	2	0	3	3	0	3	3
		1	4	3	1	3	3
	4	0	4	2	0	3	3
		0	4	3	0	4	3
	6	0	4	3	1	3	3
		1	4	3	1	4	3
	8	3	4	3	2	4	3
		1	4	3	0	4	2
	10	2	4	4	3	2	2
		2	3	2	2	3	3
CARACOLES INFECTADOS	2	4	4	2	4	5	3
		4	4	3	5	5	5
		4	3	2	1	4	5
		4	4	3	4	5	5
		3	5	5	4	5	4
	4	5	5	5	3	5	5
		3	5	5	5	4	4
		4	3	4	5	5	4
		2	5	5	3	5	5
		4	5	3	3	4	5
	6	1	2	4	2	5	5
		1	4	5	2	5	5
		2	5	5	2	3	5
		2	5	5	0	5	4
		2	5	5	2	2	4
	8	2	5	5	2	4	4
		2	5	4	2	3	5
		1	4	5	5	4	5
		4	4	4	4	5	5
		3	5	4	1	5	4
10	3	5	5	4	5	5	
	3	5	5	4	5	5	
	3	5	5	5	5	4	
	3	5	5	1	5	5	
	3	5	4	4	4	5	

CUADRO No. 5

DISECCION DE CARACOLES MUERTOS NEGATIVOS O POSITIVOS A LA INFECCION CON MIRACIDIOS DE Fasciola hepatica.

ESPECIE	EDAD EN SEMANAS	NEGATIVOS	POSITIVOS
<u>L. bulimoides</u>	2	14	5
	4	22	6
	6	37	3
	8	42	1
	10	46	1
<u>L. cubensis</u>	2	48	11
	4	35	3
	6	46	2
	8	45	2
	10	48	0
<u>L. humilis</u>	2	12	6
	4	10	16
	6	11	15
	8	17	15
	10	22	24

CUADRO No. 6

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS CARACOLES Lymnaea bulinoides L. cubensis
Y L. humilis INFECTADOS CON MIRACIDIOS DE Fasciola hepatica.

FRECUENCIA DE VALORES	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADROS	CUADRADOS MEDIOS	F.
Método	1	0.16	0.16	0.13
Edad	4	113.60	28.4	23.28*
Especie	2	155.21	77.60	63.60*
Método x edad	4	3.87	0.967	0.792
Método x especie	2	0.9	0.45	0.37
Edad x especie	8	33.12	4.14	3.39**
Método x edad x especie	8	7.97	0.996	0.816
Error	120	146.44	1.22	
Total	149	461.27		

* Indica diferencias significativas ($\alpha < 0.01$)

** Indica diferencias significativa ($\alpha < 0.05$)

CUADRO 7

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS CARACOLES Lymnaea bulimoides, L. cubensis
 Y L. humilis LIBERADORES DE CERCARIAS DE Fasciola hepatica.

FRECUENCIA DE VALORES	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADROS	CUADROS MEDIOS	F.
Método	1	0.026	0.026	0.0273
Edad	4	108.96	27.24	28.67*
Especie	2	38.56	19.28	20.29
Método x edad	4	9.17	2.29	2.41
Método x especie	2	3.25	1.62	1.705
Edad x especie	8	14.74	1.84	1.936
Método x edad x especie	8	12.25	1.531	1.61
Error	120	114.004	0.950	
Total	149	300.96		

* Indica diferencias ($\alpha < 0.01$)

CUADRO No. 8

ANALISIS DE VARIANZA DE LA PRODUCCION DE METACERCARIAS DE Fasciola hepatica LIBERADAS POR LOS CARACOLES Lymnaea bulimoides, L. cubensis Y L. humilis.

FRECUENCIA DE VALORES	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADROS	CUADRADOS MEDIOS	F.
Método	1	115370.67	115370.670	1.004
Edad	4	68180882.03	17045220.410	148.349*
Especie	2	18819030.10	9409515.050	81.89*
Método x edad	4	11267358.00	2816839.500	24.516*
Método x especie	2	1359312.41	679656.205	5.915*
Edad x especie	8	9361167.38	1170145.923	10.184*
Método x edad x especie	8	8563898.51	1070487.314	9.317*
Error	120	13787950.90	114899.590	
Total	149	131454970.00		

* Indica diferencias ($\alpha < 0.01$)

CUADRO No. 9

ANALISIS DE VARIANZA DE MORTALIDAD PARA Lymnaea bulimoides, L. cubensis y L. humilis AL FINALIZAR EL EXPERIMENTO

FRECUENCIA DE VALORES	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADROS	CUADRADOS MEDIOS	F.
Método	1	0.233	0.233	0.350
Edad	4	10.36	2.490	3.910*
Especie	2	134.437	67.218	101.700*
Infección	1	96.429	96.429	145.900*
Método x edad	4	1.980	0.495	0.748
Método x especie	2	1.182	0.591	0.894
Método x infección	1	1.493	1.493	2.250
Edad x especie	8	19.330	2.416	3.650*
Edad x infección	4	7.530	1.882	2.840**
Especie x infección	2	8.049	4.022	6.085*
Método x edad x especie	8	3.813	0.476	0.720
Método x edad x infección	4	1.237	0.309	0.460
Método x especie x infección	2	0.172	0.086	0.130
Edad x especie x infección	8	21.158	2.644	4.000*
Método x edad x especie x infección	8	10.992	1.374	2.078**
Error	151	99.799	0.661	
Total	210	418.195		

* Indica diferencias ($\alpha < 0.05$)** Indica diferencias ($\alpha < 0.05$)

CUADRO No. 10

DATOS DE LOS CARACOLES *L. bulimoides*, *L. cubensis* Y *L. humilis* EN COMPARACION CON EL NUMERO DE CARACOLES EXPUESTOS A LA INFECCION, NUMERO DE CARACOLES INFECTADOS, NUMERO DE CARACOLES LIBERADORES Y NUMERO DE METACERCARIAS OBTENIDAS EN LAS DIFERENTES EDADES DE LOS LIMNEIDOS.

ESPECIE	EDAD EN SEMANAS	NO. CARAC. EXP. A INF.	NO. CARAC. INFECT.	% CARAC. INFECT.	NO. CARAC. LIBERADORES	% CARAC. LIBERAD.	NO. DE META CERCARIAS	X METACERC. POR LIBERAD.
<u><i>L. bulimoid.</i></u>	2	50	36	72	31	62	22937	739.89
	4	50	28	56	22	44	12403	563.9
	6	50	13	26	10	20	4689	468.9
	8	50	8	16	7	14	3847	549.6
	10	50	4	8	4	8	2759	689.75
<u><i>L. cubensis</i></u>	2	50	32	64	21	42	10381	494.33
	4	50	15	30	12	24	6765	563.75
	6	50	4	8	2	4	823	411.5
	8	50	5	10	3	6	245	81.6
	10	50	2	4	2	4	1072	536.0
<u><i>L. humilis</i></u>	2	50	38	76	32	64	28837	901.2
	4	50	40	80	24	48	12831	534.62
	6	50	39	78	24	48	9954	414.75
	8	50	33	66	18	36	8857	493.72
	10	50	28	56	4	8	1614	403.5

CUADRO No. 11

DATOS DE LA PRODUCCION DE METACERCARIAS LIBERADAS POR L. bulimoides,
L. cubensis y L. humilis EN CUATRO EXPOSICIONES

ESPECIE	1a.SEMANA	2a.SEMANA	3a.SEMANA	4a.SEMANA	TOTALES
<u>L. bulimoides</u>	521	3328	34218	8568	46635
<u>L. cubensis</u>	8	1886	15120	1022	19286
<u>L. humilis</u>	4	3108	50568	8443	62123

CUADRO No. 12

DATOS DEL NUMERO TOTAL DE CARACOLES INFECTADOS, LIBERADORES Y NUMERO -
TOTAL DE METACERCARIAS OBTENIDAS EN LAS DIFERENTES SEMANAS DE EDAD EN
LAS TRES ESPECIES DE LIMNEIDOS TRABAJADAS

EDAD EN SEMANAS	TOTAL DE INFEC.	TOTAL DE LIB.	TOTAL DE METACERC.
2	106	84	52155
4	83	58	31999
6	56	36	15466
8	46	28	12979
10	34	10	5445

CUADRO No. 13

DATOS DEL NUMERO DE CARACOLES MUERTOS ANTES Y DESPUES DE CADA EXPOSICION EN L. bulimoides, L. cubensis Y L. humilis.

ESPECIE	EDAD EN SEMANAS	# CARACOLES EXP. A INF.	No. DE CARACOLES MUERTOS ANTES DE LA EXPOSICION Y SU PORCIENTO		NUMERO DE CARACOLES MUERTOS DESPUES DE CADA EXPOSICION Y SU PORCIENTO CORRESPONDIENTE.							
					1a.	2a.	3a.	4a.				
<u>L. bulimoides</u>	2	50	7	14%	10	20%	13	26%	17	34%	37	74%
	4	50	5	10	10	20	12	24	17	34	37	74
	6	50	3	6	6	12	6	12	7	14	16	32
	8	50	11	22	12	24	16	32	16	32	26	52
	10	50	12	24	20	40	23	46	25	50	33	66
<u>L. cubensis</u>	2	50	6	12%	9	18%	12	24%	17	34%	44	88%
	4	50	16	32	18	36	18	36	26	52	46	92
	6	50	17	34	19	38	23	46	37	74	41	82
	8	50	31	62	36	72	36	72	41	82	44	88
	10	50	37	74	42	84	42	84	42	84	49	98
<u>L. humilis</u>	2	50	6	12%	7	14%	7	14%	18	36%	37	74%
	4	50	16	32	18	36	18	36	41	82	45	90
	6	50	14	28	16	32	16	32	24	48	47	94
	8	50	18	36	19	38	19	38	22	44	45	90
	10	50	32	64	37	74	37	74	38	76	48	96

CONCLUSIONES

- 1- Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas ($\alpha > 0.01$) por el método de infección individual o masiva.
- 2- La edad en la que se infectan mejor los caracoles L. bulimoides, - L. humilis y L. cubensis con miracidios de Fasciola hepatica fue a las dos semanas.
- 3- A las dos semanas de edad se encontró el mayor número de caracoles - infectados, mayor número de limneidos liberadores y mayor producción de metacercarias.
- 4- La relación entre edad y liberación de cercarias fue inversamente - proporcional en las tres especies de limneidos.
- 5- En la tercera exposición (7a. semana) fue donde se produjo la mayor cantidad de metacercarias.
- 6- Lymnaea humilis resultó ser la especie más susceptible a la infección con miracidios de Fasciola hepatica, con mayor número de liberadores y con mayor número de metacercarias liberadas.
- 7- En L. humilis no hubo diferencias en relación a la edad de infección puesto que se infectó a las 2,4,6,8 y 10 semanas.
- 8- L. humilis fue más susceptible a la infección con miracidios de - Fasciola hepatica que L. bulimoides.
- 9- Lymnaea cubensis fue la especie menos susceptible a la infección con miracidios de Fasciola hepatica.

LITERATURA CITADA

- 1- Alcíbar, M.P. 1984. Evaluación de la infectividad de miracidios y metacercarias de Fasciola hepatica con relación a su origen. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. UNAM.
- 2- Borchert, A. 1964. Parasitología Veterinaria. Edit. Acribia, Zaragoza, 30-80.
- 3- Burrows, W. 1965. Tratado de Microbiología, 18a. edición. Edit. Interamericana, México 746 pp.
- 4- Carballo, M.R., Castiglioni Z. y Fastel.R. 1977. Distomatosis a Fasciola hepatica en el Uruguay. Infecciones experimentales. Algunos aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos e inmunológicos. - Rev. Lat. Amer. Microbiol. 19: 87-97.
- 5- Cawdery, M.J.H. 1976. The effects of fasciolosis on ewe fertility Br. Vet. J. 132 (6): 568-575.
- 6- Cawdery, M.J.H., Conway, A., Strickland, K.L., and Crow, P.S. 1977. Production effects of liver fluke in cattle. The effects of infection on liver weightgain, feed intake, and food conversion efficiency in beef cattle. Br. Vet. J. 133 (2): 271-279.
- 7- Cawdery, M.J.H. and Conway, A. 1971. Production effects of the liver fluke, Fasciola hepatica on beef cattle. Vet. Rec. 89(24):641-643.
- 8- Clark, P. R., 1981. Parasitismo animal. Edit. C.E.C.S.A., México. 69-85.

- 9- Coil, W.H. 1974. Susceptibility of Stagnicola bulimoides techella to Fasciola hepatica. In third International Congress of Parasitology, Munich, August 25-31. Proceedings, Vol. 1. Vienna, Austria.
- 10- Coil, W.H. 1977. The penetration of Fasciola hepatica miracidia into the snail host Fossaria bulimoides: A scanning electron microscope study. Z. Parasitic, 54(3):229-232.
- 11- Cruz, R.A. 1983. Variación en la susceptibilidad de seis especies de limneidos a la infección con Fasciola hepatica. IV Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, México, 17p.
- 12- Chavarria, Ch. M. 1956. La sanguijuela del hígado. México, Ganadería 2: 7-13.
- 13- Departamento de Agricultura de U.S.A. 1965. Enfermedades de los animales. Edit. Herrera, México, 435-436.
- 14- Emmett, W.P. 1956. Animal Diseases. United States Department of Agriculture, Washington, D.C. 206-212.
- 15- Escudero, C.J.L. y Flores C.R. 1984. Evaluación de la susceptibilidad de tres especies de caracoles limneidos con miracidios de Fasciola hepatica de dos orígenes. Memoria de la Reunión de Investigación Pecuaria en México 250p.
- 16- Flagstad, S.T., Andersen and Nielsen, K. 1972. The course of experimental Fasciola hepatica infection in calves with deficient cellular immunity. Rev. Vet. S.C.I. 13: 468-475.
- 17- Forey, W.J. and A.C. Todd. 1978. Experimental infection of Lymnaea snails in Wisconsin with miracidia of Fascioloides magna and Fasciola hepatica. J. Parasit. 64(6): 1132-1134.

- 18- García, C. F., 1975. Pérdidas económicas por decomiso de hígados - parasitados con Fasciola hepatica en bovinos procedentes del estado de Veracruz, sacrificados en el rastro de la Paz Edo. de México. Tesis de licenciatura. Fac.Med.Vet. y Zoot. UNAM.
- 19- González, H.A. 1969. Evaluación de pérdidas económicas ocasionadas por decomiso total o parcial del hígado en bovinos parasitados con Fasciola hepatica en el rastro de Ferrería. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot., UNAM.
- 20- Hadden, J.W. y E.F. Pascarelli, 1967. Diagnóstico y tratamiento de Fasciola humana. Jamer. Med. Ass. 202: 149-151.
- 21- Hutyra, V.G., Marek, J. y Manninger, R. 1968. Patología Terapéutica especial de los animales domésticos T. II. 2a. Edición. Edit. Labor. Barcelona, 308-323.
- 22- Isseroff, H. y Smith, K.R. 1978. Laboratory cultivation of Fossaria cubensis (Pheiffer) (Gastropoda:Lymnaeidae) for use as an intermediate host for Fasciola hepatica J. Parasitol, 64(6): 1134-1135.
- 23- Jiménez-Albarrán, M. y Guevara P., D. 1977. Estudios experimentales sobre Biología de Fasciola hepatica. 2a. Influencia de la edad de Lymnaea (Galba) truncatula en su infección por miracidios de Fasciola hepatica y de las diferencias en la emisión de cercarias según el tiempo transcurrido desde su infestación. Rev. Iber. Parasitol. 37 (3-4): 355-363.
- 24- Jubb, K. 1973. Patología de los animales domésticos. Edit. Labor. Barcelona 290-299.

- 25- Landeros, V.Z., Ibarra V.F., Escudero C.J.L. y Milián S.F. 1981. Determinación de algunos hospederos intermediarios de Fasciola hepatica en la cuenca lechera de Tulancingo, Hidalgo. Téc. Pec. Méx. 40: 47-51.
- 26- Lapage, G. 1971. Parasitología Veterinaria 1a. edición. Edit. CECSA, México, 246-287.
- 27- Martínez Baez, M.M.C. 1953. Manual de Parasitología Médica. La Prensa Médica Mexicana, México 327pp.
- 28- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Agricultural Development and advisory service. 1977. Manual of veterinary parasitological laboratory techniques technical bolletin No. 18. London Her Majesty's stationery office. 129p.
- 29- Quiroz, R.H. 1984. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Edit. Limusa, México 232-247.
- 30- Quiroz, R.H., Castell Blanch, H.D., Fernández de Córdova L. 1973. Efecto de la fasciolosis en la producción láctea en bovinos estabulados. Revista Veterinaria UNAM. 5(2): 31-33.
- 31- Quiroz, R.H. 1973. Epizootiología de la fasciolosis. Memorias del Seminario de Parasitología en Rumiantes AMPAVE-DGSA: 42-48.
- 32- Quiroz, R.H. 1978. Importancia de la fasciolosis subclínica en bovinos. Memorias del curso de actualización en "Enfermedades parasitarias del ganado bovino". Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM., México: 63-71.

- 33- Quiroz, R.H., Herrera R. D., Fernández de Córdova L. 1973. Valoración de la intradermorreacción en el diagnóstico de la fasciolosis bovina. Revista Vet. UNAM. 4(4): 236-239.
- 34- Roseby, F.B. 1970. The effects of fascioliasis on the wool production of merino sheep. Australian Vet. J. 46: 361-365.
- 35- Sánchez, A.A., Herrera R.D., Barrios D.L. 1976. Incidencia de fasciolosis y su valoración económica a partir de hígados decomizados de ganado Holstein nativo de la región, sacrificados en el rastro de - Tulancingo, Hgo. Téc. Pec. Méx. 30: 110.
- 36- Santos, A. 1923. Ganadería Práctica 3a.ed. Edit.Aguilar. Madrid. Pág. 145.
- 37- Santos, V.C. 1984. Datos preliminares sobre la prevalencia de Fascio la hepática en dos especies de caracoles de Atlangatepec, Tlaxcala, Memorias de la V. Reunión ANual de Parasitología Veterinaria, Toluca Pág. 89.
- 38- Tabares, B.E. 1977. Estudio sobre epizootiología e importancia de la fasciolosis en ganado bovino y pérdidas económicas por decomiso de - hígados parasitados, en el municipio de Cuauhtepac, Hgo., Tesis de licenciatura Fa. Med. Vet. y Zoot. UNAM.
- 39- Taylor, E.L. 1973. La fasciolosis y el distoma hepático. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma - 250 pp.
- 40- Tercer informe Comité Mixto FAO O.M.S. de expertos en Zoonosis, 1969. Ginebra Suiza, Serie de informes técnicos No. 378: 109.

- 41- Urganat, G.M. and J. Armour. 1973. Helminth diseases of a workshop held at the veterinary, school of University of Glasgow: 81-114.
- 42- Watanabe, S. 1967. Fasciolosis of ruminants in Japan. Japan Agric. Res. 2: 22-27.