

01690
1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

295947

IDENTIFICACION, CICLO DE VIDA, DINAMICA
POBLACIONAL, GRADO DE INFECCION DE
CARACOLES Y TRANSMISION DE FASCIOSIS
BOVINA BAJO CONDICIONES DE CAMPO Y
DE LABORATORIO.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS
AREA: DE PARASITOLOGIA
PRESENTADA POR:
MVZ. M. en C. IRENE CRUZ MENDOZA



DIRECTORES DE TESIS: DR. FROYLAN IBARRA VELARDE
DRA. MA. TERESA QUINTERO MARTINEZ
DRA. EDNA NARANJO GARCIA
DR. JORGE LECUMBERRI LOPEZ

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIAS:

A mi madre BEATRIZ MENDOZA LÓPEZ por haberme apoyado, y por compartir los mejores y peores momentos.

A mi esposo GAUDENCIO VÁSQUEZ PÉREZ, por haberme apoyado, por compartir los mejores y peores momentos, llegando a la realización de este trabajo.

A mis hijas OLGA LIDIA LUNA CRUZ Y AUREA GISELA VÁSQUEZ CRUZ por la sola presencia de ellas en esta vida, le doy gracias a Dios por tenerlas, es un estímulo para seguir mejorando en todo momento.

A mi nieto JESUS AXEL FLORES LUNA llega en el momento difícil de mi existencia, pero es la fortaleza de mi vida.

A mis hermanos IRENEO CRUZ MENDOZA, FRANCISCO CRUZ MENDOZA por el apoyo brindado, y por compartir los mejores y peores momentos.

AGRADECIMIENTOS.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE HIDALGO por haberme proporcionado el sitio de trabajo para realizar este estudio.

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO por haberme facilitado, y proporcionado las instalaciones necesarias para alojar a los animales experimentales.

A MIS ASESORES:

Doctor Froylán Ibarra Velarde, Doctora María Teresa Quintero Martínez, Doctora Edna Naranjo García y el Doctor Jorge Lecumberri López. Gracias, por dirigirme, brindándome el apoyo y la paciencia necesaria para concluir esta tesis.

AI COMITÉ ACADÉMICO

PRESIDENTE	DR. ANTONIO MORILLA GONZALEZ
VOCAL	DRA. CAMILA ARRIAGA DIAZ
SECRETARIO	MC. CRISTINA GUERRERO MOLINA
VOCAL	DR. CARLOS CRUZ VAZQUEZ
VOCAL	DRA. EDNA NARANJO GARCIA
SUPLENTE	DR. FROYLAN IBARRA VELARDE
SUPLENTE	DRA. MARIA TERESA QUINTERO MARTÍNEZ

Por haberme guiado dándome consejos para mejorar y finalizar esta investigación.

Esta tesis se realizó con apoyo parcial del Proyecto del PAPIIT, No. IN218996 DGAPA. UNAM.

Dirigido por: Dr. Héctor Quiroz Romero
Dr. Froylán Ibarra Velarde
Dra. María Teresa Quintero Martínez

Indice general

Páginas

Resumen _____	VII
Abstract _____	IX
Introducción _____	1
Justificación _____	5
Protocolo 1.	
Determinación del Número de caracoles liberadores de metacercarias de <i>F. hepatica</i> y su relación con la prevalencia de bovinos fasciolosis en Tulancingo, Hgo.	
Introducción _____	7
Justificación _____	8
Objetivo _____	9
Hipótesis _____	9
Material y Métodos _____	9
Resultados _____	13
Discusión _____	16
Conclusión _____	20
Cuadros y figuras _____	21-35
Protocolo 2.	
Identificación y cuantificación de la población de caracoles huéspedes intermediarios y no intermediarios de <i>Fasciola hepatica</i> en el rancho universitario de la Universidad Autónoma de Hidalgo localizado en Tulancingo, Hgo.	
Introducción _____	36
Justificación _____	42
Objetivo _____	42
Material y Métodos _____	42
Resultados _____	44
Discusión _____	49

Conclusión	53
Cuadros y figuras	54-62

Protocolo 3.

Evaluación de la dinámica poblacional de caracoles huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* en el municipio de Tulancingo, Hgo.

Introducción	63
Justificación	71
Objetivo	72
Hipótesis	72
Material y Métodos	72
Resultados	76
Discusión	79
Conclusiones y recomendaciones	82
Cuadros y figuras	83-86

Protocolo 4.

Determinación del grado de infección de caracoles con diferentes estados evolutivos de *Fasciola hepatica* infectados en forma natural y en el laboratorio durante cuatro estaciones del año en el rancho universitario en el municipio de Tulancingo, Hgo.

Introducción	87
Justificación	91
Objetivo	91
Hipótesis	91
Material y Métodos	92
Resultados	98
Discusión	102
Conclusión	106
Cuadros y figuras	107-113

Protocolo 5

Evaluación de la viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *Fasciola hepatica* administradas en diferentes estaciones del año a conejos y ratones.

Introducción	114
Justificación	119
Objetivo	119
Hipótesis	120
Material y Métodos	120
Resultados	124
Discusión	125
Conclusión	128
Cuadros y figuras	133
Conclusiones finales	134
Literatura citada	135-152

Resumen

Irene Cruz Mendoza. Identificación, ciclo de vida, dinámica poblacional, grado de infección de caracoles y transmisión de fasciolosis bovina bajo condiciones de campo y de laboratorio. Bajo la dirección de los doctores: Froylán Ibarra Velarde, Ma. Teresa Quintero Martínez, Edna Naranjo García y Jorge Lecumberri López.

La fasciolosis es una trematodosis altamente endémica de gran relevancia económica en México, particularmente en el municipio de Tulancingo, Hidalgo. La información existente con respecto a la relación del parásito-huésped intermediario de *F. hepatica*, es muy escasa por lo que se manifiesta necesario incidir en estudios malacológicos tendientes a conocer aspectos relacionados con este tópico. Para ello se realizaron varios estudios con los siguientes objetivos: 1. Determinar los porcentajes de liberación de metacercarias de *F. hepatica* en caracoles huéspedes intermediarios y su posible relación con la prevalencia de fasciolosis en bovinos del rancho universitario. 2. Identificar y cuantificar las poblaciones de caracoles huéspedes intermediarios y no intermediarios de *Fasciola hepatica* en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo, México. 3. Determinar la dinámica poblacional de los caracoles huéspedes intermediarios de *F. hepatica*, colectados en el rancho universitario y obtenidos en el laboratorio. 4. Determinar el grado de infección de caracoles con diferentes estadios evolutivos de *F. hepatica* infectados en forma natural y en el laboratorio, 5. Determinar la viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *F. hepatica*, en conejos y ratones, obtenidas en estado natural y en el laboratorio. En el laboratorio se identificó los moluscos colectados cada mes y durante 19 ocasiones, se realizó el análisis fecal de los bovinos en estudio. La liberación de cercarias y la obtención de esporoquistes y redias de caracoles, se realizaron de acuerdo a métodos previamente registrados en la literatura. La infectividad de las metacercarias se demostró a través de la infección de 10 ratones y 5 conejos. En el

estudio 1, se determinó que el porcentaje de infección de caracoles con cercarias de *F. hepatica* durante un año y medio varió de 1.1% a 2.4%. La prevalencia de huevos de *F. hepatica* fue mas manifiesta en los meses invernales. En el estudio 2, se colectó un total de 5474 moluscos de los 5 biotopos estudiados, identificando a *Fossaria humilis* (1673; 32.2%) como huésped intermediario de *F. hepatica*. Los moluscos no huéspedes intermediarios de *F. hepatica* fueron *Succinea* sp 3083 (56.3%), *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* 348 (6.7%), *Physa cubensis* 279 (5.3%) y *Helix aspersa* 91 (1.7%). En el estudio 3, La dinámica de la población de *Fossaria humilis* colectados en el campo se encontraron con mayor cantidad en los biotopos 1,4 y 5, en los meses de julio a noviembre de 1997, con tamaños de altitud y diámetro (10.5-6mm;4.9-2.9mm) respectivamente con respecto de la dinámica poblacional de moluscos criados en el laboratorio se manejaron los moluscos mediante estratificación de edades logrando poblaciones en oviposición hasta por 14 semanas y con sobrevivencia en ocasiones hasta por 2 años. En el estudio 4, el porcentaje de infección de *F. humilis* obtenidos en el campo fue del 50% en agosto y de 47% en noviembre de 1997, observando la presencia de esporoquistes, redias y cercarias. Caracoles inoculados en el laboratorio produjeron un 8.4% de metacercarias y a la preparación de estos moluscos con la bolsa de nylon, se determinó que el 24% estaban infectados. En el estudio 5, sobre infectividad de las metacercarias de *F. hepatica* en conejos y ratones, se obtuvo un 50% y 31.6% de infección, respectivamente. Conclusiones las especies de caracoles encontradas fueron: *F. humilis*, *P. (Pierosoma) trivolvis*, *P. cubensis* *H. aspersa* y *Succinea* sp., determinando a la primera como único huésped intermediario de *F. hepatica*. Se determinó una alta viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *F. hepatica* en ratones. No se encontró una correlación positiva entre los porcentajes de caracoles infectados con la prevalencia en los bovinos fasciolosos. Sin embargo, se observó que tanto los moluscos como los bovinos estuvieron mayormente infectados en los meses de otoño e invierno

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, BOVINOS, IDENTIFICACIÓN Y DINÁMICA POBLACIONAL DE CARACOLES, *Fossaria humilis*, GRADO DE INFECCIÓN,

Abstract

Irene Cruz Mendoza. Identification, life cycle, population dynamics, snail infection rate and transmission of bovine fasciolosis under laboratory and field conditions. Under the supervision of Drs. Froylán Ibarra Velarde, Ma. Teresa Quintero Martínez, Edna Naranjo García and Jorge Lecumberri López.

Fasciolosis is a highly endemic trematode disease of great economic importance in Mexico, particularly in the Municipality of Tulancingo, Hgo. Little information is available on the intermediate host of *Fasciola hepatica*. It is therefore necessary to investigate certain malacological aspects of this disease. Five studies were carried out with the following objectives: 1. To determine the percentage of *F. hepatica* metacercariae that excyst in the intermediate host snails and its possible relationship with the prevalence of fasciolosis in cattle at the university ranch. 2. To identify and quantify the intermediate host population (of *F. hepatica*) at the ranch of the Autonomous University of Hidalgo, Mexico. 3. To determine the population dynamics of the snail intermediate hosts of *F. hepatica* collected at the university ranch and maintained in the laboratory. 4. To determine the degree of mollusk infection, both natural and in the laboratory, with different larval stages of *F. hepatica*. 5. To determine the viability and degree of infectivity of *F. hepatica* metacercariae, obtained in the field and in the laboratory, in rabbits and mice and the infections were done in the lab. The identification of mollusks collected in the field was carried out in the laboratory as well. Every month and on 19 occasions, coprological analyses were performed on faeces from the cattle being studied. Excystment of metacercariae and preparation of snails for the study of different larval stages of *F. hepatica* were done following previously published methods. Metacercarial infectivity was demonstrated through the infection of 10 mice and 5 rabbits. In study 1, the percentage of snails infected with *F. hepatica* metacercariae over a year and a half was found to vary from 1.1 to 2.4%. *Fasciola hepatica* eggs were observed mostly during the winter months.

In study 2, studied a total of 5474 mollusks were collected from 5 biotopes (habitats), of which 1673 (32.2%) were identified as *Fossaria humilis*, intermediate host of *F. hepatica*. The non intermediate hosts of *F. hepatica* identified were: *Succinea* sp. 3083 (56.3%), *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* 348 (6.31%), *Physa cubensis* 279 (5.3%) and *Helix aspersa* 91 (1.7%). In study 3, regarding field snail population dynamics obtained; mollusks were most observable in biotopes 1,4 and 5 from July to November 1997. Regarding snail population dynamics of mollusks, grow in the laboratory, they were handled by age stratification means, getting ovipositor specimens which reached up to 14 weeks and up to 2 years of survival. In study 4, the percentage of infection of *F. humilis* obtained in the field was of 50% in August and of 47% in November 1999, observing the presence of sporocysts, redias and cercariae. The infection of the snails in the laboratory produced 8.4% of metacercariae and when mollusks were prepared for larvae observation, 24% were infected. In study 5, with regard to the infectivity of the metacercariae of *F. hepatica* in rabbits and mice, a 50% and 31.6% of infection was obtained, respectively. It is concluded that the species of snail identified were: *F. humilis*, *Succinea* sp., *P. (Pierosoma) trivolvis*, *P. cubensis* y *H. aspersa*, determining *F. humilis* as the only intermediate host of *F. hepatica*. A high degree of viability and infectivity of metacercariae of *F. hepatica* in rodents was obtained. Non positive correlation was observed between the percentage of snails infected with the prevalence of fluke-infected cattle. However, it was observed that snails and cattle were mostly infected during the autumn-winter months.

Key words: *Fasciola hepatica*, CATTLE, IDENTIFICATION AND SNAIL'S POPULATION DYNAMICS, *Fossaria humilis*, DEGREE OF INFECTION.

Introducción

La fasciolosis es una de las parasitosis que más pérdidas ocasiona en la industria pecuaria. La importancia de esta enfermedad, radica principalmente, en las pérdidas económicas causadas por los trastornos ocasionados al desempeño de las funciones zootécnicas en los animales domésticos y el constante decomiso de hígados por *Fasciola hepatica*, problema que resulta ser bastante grave¹

Huéspedes definitivos de *Fasciola hepatica*

La fasciolosis, es una enfermedad parasitaria ampliamente difundida en el mundo, es causada principalmente por dos especies de la Familia Fasciolidae, *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*², estas especies parasitan a los rumiantes, siendo los más afectados los bovinos, ovinos y caprinos. El trematodo se localiza en estado adulto en los conductos biliares y en estado inmaduro en el parénquima hepático. También puede existir en muchos otros animales como reservorios y diseminadores, como el cerdo, liebre, conejo, castor, elefante, caballo, perro, gato, canguro y el ser humano^{3,4}.

Nombres comunes dados a la *Fasciola hepatica*

En México, *Fasciola hepática* es conocida con una gran variedad de términos tales como: distoma hepático, conchuela, duela del hígado, palomilla, orejuela, arenilla,

hilillo, caracolillo, conchita, sanguijuela, acucuyachi, acocoyechic y cucuyache las tres últimas palabras derivan del vocablo azteca "acuecuyachin" que significa sanguijuela ^{4, 2, 5, 6, 7}.

Ciclo de vida de *Fasciola hepatica*

El ciclo de vida de *F. hepatica* es de tipo indirecto, en la fase parasítica interviene como huésped intermediario el caracol del género *Lymnaea* y como huésped definitivo el mamífero. Las fases de vida libre se desarrollan en el medio ambiente en donde el miracidio es la forma infectante para el caracol y la metacercaria para el bovino. Las metacercarias están diseminadas en la vegetación y en el agua que el bovino ingiere al alimentarse o beber⁸.

Prevalencia de *Fasciola hepatica*

La información no es completa, sin embargo, en México los estados con prevalencia alta son Tabasco y Veracruz, hay una prevalencia mediana en los estados de México, Guanajuato, Michoacán, Hidalgo, Tlaxcala, Chiapas y con menor prevalencia en Baja California Norte, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León Tamaulipas, Zacatecas y de Baja California Sur, Yucatán y Quintana Roo se señalan como libres de esta enfermedad ^{7, 9, 10, 11, 3, 4, 12}.

Estudios sobre la importancia económica de la fasciolosis en diferentes partes del mundo

La importancia económica que tiene esta enfermedad radica en las cuantiosas pérdidas que ocasiona a la ganadería en muchas partes del mundo, las cuales dependen de la intensidad de la infección en el ganado bovino y ovino; estas pérdidas se dividen en dos grupos que son las pérdidas directas e indirectas. Las directas se presentan con la muerte repentina de los ovinos, al aparecer bruscamente la enfermedad y, es dada a consecuencia de la migración de las fases juveniles del parásito a través del parénquima hepático sobre todo en los años en que las lluvias son muy altas. Las pérdidas indirectas se manifiestan por disminución de peso, anemia progresiva, mala conversión alimenticia con el conocido síndrome de desnutrición, resequedad de la piel, mal estado de la carne, mala calidad de la lana, baja producción de la leche de entre 5% en las vacas, y con fasciolosis crónica hasta el 70 o 100% en los animales que están parasitados. La infertilidad precoz y los abortos retardan el intervalo entre parto y parto, mal estado físico (caquéccico) como consecuencia bajo desarrollo de las crías, ya que retarda el crecimiento del 30% hasta el 50% y mayor susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas y parasitarias^{13,14,3}.

Datos sobre las pérdidas directas e indirectas causados por *Fasciola hepatica* en México

Wamae¹⁴ realizó en Kenia Africa una investigación en animales provenientes de Iringa donde registra un decomiso de hígados del 26% por estar infectados con *Fasciola hepatica* en ovinos y 23% en cabras; sin embargo, menciona que en Tabora el decomiso en el ganado bovino y ovino es del 0.1%. La corporación de mataderos de Glasgow mostró que en 1975, el 18% de los hígados de ovinos fueron decomisados por estar infectados con *Fasciola hepatica* con una pérdida de 10.000 libras esterlinas que equivale a 5.600 dólares.

García¹⁵, notificó que el 1.2% de 9566 hígados son decomisados de los bovinos sacrificados en el rastro de la Paz, Edo. de México, esto es 534.50 Kg con un valor de 9,189 pesos. Sánchez¹⁶, informa que en Jalapa, Veracruz entre noviembre de 1973 y octubre de 1974, 757.12 Kg de hígado con un valor de 18,928 pesos fueron decomisados por presentar *F. hepatica*. De la Rosa¹⁷ menciona que entre agosto y octubre de 1974, se decomisaron 897,450 kg de hígados, considerando el precio por kilogramo a 28.00 pesos; la pérdida ascendió a 7,179.60 pesos.

Sánchez *et al*¹¹ (1976) mencionaron que 73.9% de los hígados de 1150 bovinos sacrificados en el rastro de Tulancingo, Hgo. México, fueron decomisados representando una pérdida directa promedio de 6.7 kg por hígado parasitado.

Asimismo, Vázquez¹⁸ en el período de 1978-1979 señala que el rastro de Milpa

Alta se decomisaron 33 kg de hígado de ganado ovino infectado con *Fasciola hepatica* determinando una pérdida económica de \$ 595.00. García *et al*¹ entre 1977 y 1987, consultaron los libros oficiales del registro de decomisos de la Secretaría de Salud en el Servicio de Inspección del rastro de Ferrería, en donde se sacrificaron un total de 2,101,224 de bovinos, decomisándose 109,127 hígados infectados con *Fasciola hepatica*, que corresponden a un 5.19 % del total de decomisos, con una pérdida que asciende a 763,889 kg de hígados y con pérdidas económicas de \$ 1375'000,200.00.

Riva¹⁹ mencionó que en los meses de junio de 1984 a junio de 1985 en el rastro Municipal de Toluca se decomisaron 219.36 kg de hígados de ganado ovino infectados con *Fasciola hepatica*, con una pérdida económica de \$ 41,978.40.

Miranda²⁰ menciona que las pérdidas económicas causadas por el decomiso de los hígados de los ovinos parasitados por *Fasciola hepatica* en el rastro municipal de Tlanepantla de Baz Edo. de México fueron N\$ 143.16 y para el mercado de N\$ 1,789.5. Los meses en que se obtuvo el mayor decomiso fueron junio (6.25 %), agosto (9.15 %), y septiembre (8.02 %) de 1992.

Justificación

Como ya se mencionó anteriormente, la problemática de la fasciolosis que afecta al ganado vacuno, tiene consecuencias en la economía de la industria pecuaria; sin embargo, en México no se conocen estudios integrales tendientes a dilucidar estrategias adecuadas para establecer un mejor control de la fasciolosis con medidas de manejo del ganado sano y enfermo así como de los moluscos. En parte no se conoce la dinámica poblacional de los moluscos

huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* por lo que se considera de suma importancia realizar estudios tendientes a obtener datos biológicos y epidemiológicos que contribuyan a correlacionar el aumento o diseminación de la parasitosis a través de las diversas estaciones del año, ese conocimiento puede contribuir a establecer un mejor control de la fasciolosis en una zona endémica como es la del rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo localizado en el municipio de Tulancingo. El rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo se encuentra en una zona endémica de fasciolosis.

El estudio se realizó a través de 5 protocolos o experimentos, mismos que a continuación se describen:

PROTOCOLO 1

DETERMINACION DEL NÚMERO DE CARACOLES LIBERADORES DE METACERCARIAS DE *F. hepatica* Y SU RELACION CON LA PREVALENCIA DE BOVINOS FASCIOSOS EN TULANCINGO, HGO.

Introducción

La epidemiología de la fasciolosis en México, y en el mundo, es de vital importancia. Los estudios desarrollados con respecto a la relación que existe entre las diferentes especies de limneidos con la especie de *Fasciola hepatica* son limitados y las publicaciones sobre la relación del parásito-huésped intermediario de *F. hepatica* en México son escasos, siendo en su mayoría referencias a infecciones realizadas en condiciones de laboratorio, (Trejo *et al.* 1987; Cruz-Reyes y Malek 1987; Endeje Mendoza 1988). Los principales trabajos relacionados sobre la infección de los caracoles con *F. hepatica* son: Manga-González *et al.* (1991) en España, Malone *et al.* (1985) en Estados Unidos, Morales *et al.* (1986) en Venezuela, Nari *et al.* (1983) en Brasil y Rangel (1995) en Tabasco México mencionando los autores una prevalencia de infección en diversas especies de huéspedes intermediarios.

En México y particularmente en la cuenca lechera de Tulancingo, Hidalgo se han estudiado varios limneidos huéspedes intermediarios de *F. hepatica* citando entre ellos a *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis*, *Fossaria (Fossaria) humilis* y

Fossaria (Bakerilymnaea) bulimoides. Gómez *et al.*²¹ mencionan a *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis* como el huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en el altiplano central de México.

Castro²² mencionó que en México, la mayor distribución de caracoles limneidos corresponde a *Fossaria humilis* con el 50%.

Con respecto a la prevalencia de la fasciolosis en México es elevada en regiones en donde se combinan favorablemente, la fuente de infestación y la población susceptible^{7,8,23}.

Robles²⁴ en 1993 mencionó que la prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos registrada mediante análisis coproparasitológicos en el rancho Medias Tierras ubicado en el Municipio de Tulancingo, estado de Hidalgo, oscilaba entre un 80 y 100% a través del año.

Ballesteros *et al.*²⁵ encontraron en bovinos de Tulancingo una prevalencia de 100%, y la intensidad de eliminación de huevos fue de 12 a 67 en 5 gramos de heces.

Justificación

Existen muchos estudios en México sobre fasciolosis acerca de aspectos epidemiológicos, quimioterapéuticos, inmunológicos etc. Pero ninguno abocado a relacionar la presencia de metacercarias de *F. hepatica* en diferentes épocas del año, con la prevalencia de fasciolosis bovina detectada a través del análisis coproparasitológico, que además sirva para programar y establecer medidas de

control de la fasciolosis en el rancho universitario de Tulancingo, Hidalgo.

Objetivo

Determinar los porcentajes de liberación de metacercarias de *F. hepatica* en caracoles huéspedes intermediarios y su posible relación con la prevalencia de fasciolosis en bovinos del rancho universitario del Estado de Hidalgo.

Hipótesis

1.- La prevalencia de *Fasciola hepatica* evaluada mediante el análisis coproparasitológico será mayor al 80% en los meses de agosto a octubre en los bovinos presentes en el rancho mencionado.

2.- Se obtendrá la relación proporcional entre el porcentaje de caracoles infectados con cercarias con el porcentaje de bovinos fasciolosos así como con la temperatura y la humedad.

Material y Métodos

Área de localización del estudio

El estudio se llevó a cabo en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, localizado en las coordenadas latitud 20° 6' 5" N y longitud 98° 22' W con clima templado, altura sobre el nivel del mar de 2189 m, precipitación pluvial es de 553 mm por año con una máxima 114.3

mm y mínima de 8.6 mm, temperatura máxima de 26°C y mínima de 0.496°C, los períodos de lluvia son de junio a septiembre.

Los límites políticos son: al norte con Metepec; al Sur con Santiago Tulantepec; al Este con Acaxochitlán y Cuauhtepic; y al oeste con Acatlán y Singuilucan²⁶.

Clasificación y Uso del suelo

El suelo pertenece a la etapa primaria mesozoica, es de tipo semidesértico rico en materia orgánica y nutrimentos. En el uso del suelo, ocupa el primer lugar el agrícola, el segundo el forestal y por último el de agostadero. En tenencia de la tierra, el 62.2 por ciento es pequeña propiedad y el 37.8 por ciento es ejidal.

La vegetación es de tipo matorral y bosques.

En la zona de estudio lo que más se cultiva son: Trébol rojo (*Trifolium pratense*), Trébol blanco (*Trifolium repens*), "Rey grass", Trigo (*Triticum sativum*), Avena (*Avena sativa*), Alfalfa (*Medicago sativa*) y maíz.

El estudio se desarrolló de la manera siguiente:

Etapa de campo

Colecta de caracoles

La colecta de caracoles se efectuó de acuerdo a lo descrito por Manga González²⁷, contemplando los siguientes sitios: 1) lugares con gran humedad pero que no es visible el agua, 2) lugares de agua estancada o de bajo movimiento del agua.

El rancho universitario posee 4 hectáreas en este lugar se localizaron los 5 biotopos: Los biotopos 1,2 y 3 presentaban gran humedad. Los biotopos 4 y 5 se observaron como lugares con agua estancada y sin movimiento, localizados en los canales de agua. Una vez localizado el biotopo se dividió por transectos de 20 metros, y se marcó el lugar con una estaca de madera, en cada biotopo la colecta se realizó caminando durante 15 minutos. Los muestreos se efectuaron mensualmente durante un año y medio, a partir del mes de marzo de 1997.

Obtención de datos: Se registró el número de caracoles colectados en cada biotopo, la temperatura y la humedad relativa del suelo se tomaron con un termohigrómetro y el pH se midió con un Potenciómetro realizando las mediciones en horario del medio día.

Los caracoles colectados se depositaron en bolsas de plástico con agua y lodo se transportaron al Depto de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia de la UNAM.

Los caracoles se colocaron en charolas y se clasificaron por grupos morfológicos considerando vivos y muertos. Seguidamente éstos se identificaron y se midieron las conchas con un Vernier o una reglilla en el microscopio estereoscópico. La identificación de *Fossaria humilis* se llevó a cabo mediante la disección del aparato reproductor basándose en características señaladas por Burch²⁸, Hubendick²⁹ y Mc Craw³⁰. Los caracoles se dejaron 24 hrs en refrigeración aproximadamente a 4°C y ya relajados se depositaron en alcohol al 70%. Como instrumentos de disección se utilizaron Pinzas de relojero No. 5, bisturí y las observaciones se realizaron utilizando un microscopio estereoscópico.

Liberación de cercarias.- Los caracoles se colocaron individualmente en cada bolsita de plástico conteniendo 80 ml de agua de la llave para liberar cercarias³¹. Los moluscos fueron sometidos inmediatamente a cambios bruscos de temperatura, colocándolos en refrigeración de 5 a 10 minutos y posteriormente bajo un foco de 100 watts a un metro de distancia durante 24 horas. Cada bolsa fue marcada con la finalidad de identificar los caracoles que estaban liberando cercarias.

Preparación de los caracoles para la obtención de fases evolutivas de Fasciola hepatica.- A los caracoles que resultaron positivos a fases evolutivas de *F. hepatica* se les aplicó el método de la bolsa de nylon de Manso *et al.*³² en donde se colocó un molusco con 3 ml de agua. Seguidamente, cada molusco se comprimió con una pinza de disección y se observó al microscopio el movimiento y morfología de las fases evolutivas de *F. hepatica*.

Colecta de heces de bovinos. Cada mes y durante 19 ocasiones se colectaron heces de 30 vacas de raza Holstein Freisian en producción provenientes del mismo rancho de la UAH. Las muestras se obtuvieron directamente del recto en bolsas de plástico para transportarlas al Departamento de Parasitología, donde se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su análisis. Se utilizó el método coprológico por sedimentación³³ realizando 3 repeticiones de cada muestra. El número de huevos de *F. hepatica* obtenido fue expresado como porcentaje de huevos por gramo de heces.

Análisis de los resultados

Con la cuantificación de los caracoles de *Fossaria humilis* huésped

intermediario de *F. hepatica*, se obtuvieron promedios y porcentajes y el número de caracoles vivos y muertos.

Los datos sobre infección natural de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (agosto y noviembre) fueron obtenidos por promedio mensual, se calculó el porcentaje para obtener la estimación de proporción de los caracoles infectados y el intervalo de confianza, se empleó el método de intervalo de confianza al 95% para obtener la proporción de caracoles infectados durante un año y medio³⁴.

El tamaño de los caracoles obtenido fue evaluado con el análisis multivariado de varianza (ANDEVA)³⁵.

Para evaluar la prevalencia de fasciolosis en el ganado bovino con respecto a la relación del número de huevos expulsados con la temperatura y la humedad, se realizó una regresión de Poisson³⁵.

Resultados

Colecta de caracoles.- En el cuadro 1, se muestra cada uno de los meses, la época de sequía y lluvias, los 5 biotopos de colecta de los caracoles, así como los datos de la temperatura, la humedad relativa y el pH del suelo de cada uno de los biotopos. Se encontró un total de 1673 *Fossaria humilis*, (Cuadro 2) en los biotopos 1,4, y 5 de los cuales 1085 estaban vivos y 588 muertos (Figura 1 y 2). En noviembre de 1997 se colectó el mayor número de *F. humilis* en los biotopos 4 y 5 (Cuadro 1).

Medición de caracoles .- De los 1673 caracoles colectados en el campo se

midieron 1511, encontrándose una diferencia significativa entre la altura y diámetro ($P=3.59E-12$).

Con respecto al tamaño de los moluscos colectados y medidos durante el período que duró el estudio se observó que: en mayo y agosto de 1997 se registró a caracoles de mayor tamaño (8.5- 10 mm de altura y 5.4 de diámetro) y en septiembre los moluscos de menor tamaño (5 mm de altura y 3 mm de diámetro) y en noviembre (4.9 mm de altura y 2.9 mm de diámetro) y el tamaño más grande se registró en el mes de septiembre de 1998 (10.5mm de altura y 5.0 mm de diámetro) (Cuadro 3).

Porcentaje de fases evolutivas de *F. hepatica*.- En agosto de 1997 se prepararon (bolsa de nylon) 17 caracoles (traídos del campo) encontrándose 5 positivos a la infección, en total fueron 28(29%) redias y no se presentaron esporoquistes.

En noviembre de 1997 se prepararon (bolsa de nylon) 325 moluscos del campo obteniendo 19 positivos, 7 caracoles estaban infectados, en total sumaron 29 (2.10%) con esporoquistes y 12 caracoles infectados presentaron 34 (3.69%) redias (Cuadro 4 y Figura 3).

Fosaria humilis obtenidos del campo infectados con cercarias de *F. hepatica* en agosto de 1997. De 12 caracoles, 6 (50%) estaban infectados con cercarias. En noviembre de 17 caracoles, 8 (47%) estaban infectados con cercarias (Cuadro 5).

El porcentaje de infección de caracoles con cercarias de *F. hepatica* durante un año y medio varió de 1.1% a 2.4% (Figura 4).

Análisis coproparasitológico. El porcentaje de huevos de *F. hepatica* (Prevalencia de fasciolosis) fue más manifiesto en el mes de octubre del 1997, aumentando al 100% en los meses de noviembre y diciembre del mismo año, y en enero, febrero y marzo de 1998, declinando gradualmente desde julio (79%) hasta llegar en octubre al 44%. Al observar si el número de huevos de *F. hepatica* guarda relación con la temperatura y la humedad relativa, se encontró una relación significativa entre el número de huevos de *F. hepatica* y la humedad ($p=0.011$). No se encontró una influencia significativa de la temperatura (Figura 5).

En cuanto a la relación número de *Fossaria humilis* y el porcentaje de bovinos fasciolosos (prevalencia) se observó mayor cantidad de caracoles de septiembre a noviembre de 1997. La prevalencia de huevos de *F. hepatica* en bovinos representado como porcentaje en noviembre y diciembre de 1997 fue de 100%; de enero a junio de 1998 también varió de 100% a 79%. En cuanto al número de moluscos de enero a julio de 1998 este es menor; mientras la humedad fue de 30%. En septiembre aumenta la cantidad de moluscos, lo mismo que la humedad que aumentó al 55% y sin embargo, la prevalencia de fasciolosis bovina fue baja (44%) (Figura 6).

No se observó una relación significativa entre la prevalencia de huevos de *F. hepatica* en el ganado bovino y el porcentaje de infección de *Fossaria humilis* con la temperatura y la humedad (Figura 7).

Se observó una relación significativa en cuanto a la prevalencia de fasciolosis del ganado bovino con el tamaño de *Fossaria humilis*, la temperatura y la

humedad en los meses de mayo, agosto y octubre, obteniéndose un promedio de temperatura de 25.5°C y 32.5°C y un promedio de 36%, 46% y 50% de humedad en los biotopos 1,4 y 5 (Figura 8).

Discusión

En el presente trabajo pudo observarse que en el rancho universitario de la UAH *Fossaria humilis*, es el huésped intermediario de *F. hepatica*. Sin embargo, se ha comunicado la presencia de otras especies de limneidos huéspedes intermediarios de *F. hepatica*, en el Valle de Tulancingo, en otros ranchos se han mencionado haber colectado a *Fossaria bulimoides*, *F. cubensis* y *F. humilis*³⁶. Asimismo, Landeros *et al*³⁷ en la cuenca lechera de Tulancingo, Hidalgo determinaron como huéspedes intermediarios naturales de *F. hepatica* a *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis*, *Fossaria (Fossaria) humilis* y *Fossaria (Bakerilymnaea) bulimoides*, estas diferencias pueden deberse a las épocas de colecta, aún cuando en ningún trabajo se especifica este dato con claridad, o tal vez a otros factores propios del terreno.

En el presente estudio, la mayor frecuencia de *F. humilis* se observó en el mes de noviembre de 1997 con 638 ejemplares y en diciembre no se encontraron caracoles debido a que probablemente se encontraban estivando. En el siguiente año, se colectó menor número de moluscos de *F. humilis* después de la época de sequía. La mayor cantidad de moluscos se presentó en las estaciones

de verano y otoño de 1997; y en el año de 1998 disminuyeron en invierno, primavera y verano apareciendo nuevamente una mayor cantidad de caracoles en la época de otoño. En este estudio el comportamiento de los caracoles no concuerda con lo señalado por Perera³⁸ quien menciona que en Cuba *F. cubensis* alcanzaron en febrero y marzo sus mayores densidades, al contrario de lo que pasa en Tulancingo esto posiblemente debido a que las condiciones climáticas, así como las especies de limneidos son diferentes en Tulancingo y en Cuba.

El porcentaje de infección de caracoles liberadores de cercarias de *F. hepatica* obtenidos en el campo, fue bajo (1.1%-2.4%), sin embargo, al preparar a estos caracoles con la bolsa de nylon para el hallazgo de fases evolutivas estos porcentajes se incrementaron (2%-5%). En el presente trabajo en el año de 1997 y 1998, la humedad relativa fue muy baja (21% a 29%) en los meses de diciembre (1997) a julio (1998) (cuadro 1).

Rangel *et al.*³⁹ en Tabasco y Nari y Cardoso⁴⁰ en Uruguay mencionan que la prevalencia de *F. hepatica* se incrementa cuando la temperatura disminuye, estos datos concuerdan con el presente estudio en virtud de que en los meses invernales la prevalencia aumentó hacia el 100% y la temperatura y humedad fueron mas bajas (Figura 5).

En cuanto al porcentaje de huevos de *F. hepatica* en heces en el ganado fue mayor en la época de otoño e invierno en el año de 1997 y en la primavera de 1998, mientras que fue menor en el verano. Manga⁴¹ menciona que en condiciones adecuadas, el tiempo que transcurre desde que penetran los miracidios en el caracol hasta que se observan los huevos en las heces de

bovinos u ovejas pueden pasar de 4 a 6 meses. Asimismo en el presente estudio se observó, que la liberación de cercarias se presentó en los meses de agosto y noviembre de 1997 (verano y otoño). Malone *et al.*⁴² en Louisiana, mencionan que la mayor transmisión de *F. hepatica* al ganado es observada en los meses de febrero (invierno) y julio (verano) con temperaturas de mayores a 10°C. Bruno *et al.*⁴³ en Brasil en 1995 encontró que *Lymnaea columella* estaba infectada con 0.49% de redias y cercarias en los meses de octubre y noviembre, que corresponden a la primavera. Esos autores observaron también huevos de *F. hepatica* en muestras de heces de ganado bovino, con un 58.9% de prevalencia. El presente trabajo no concuerda con lo mencionado por aquellos autores, con respecto al porcentaje de infección de los caracoles (agosto y noviembre, que corresponde al verano y otoño) encontrándose alta de 1.1 % a 2.4%, y la prevalencia de *F. hepatica* en el ganado bovino en general fue de 70%.

Rangel³⁹ en 2 Municipios de Tabasco observó que la infección en el ganado bovino fue mayor durante la (primavera y principio de verano) y además señaló que la infección proviene principalmente de las cercarias emitidas durante el otoño e invierno, en este trabajo se piensa que las cercarias emitidas en agosto y noviembre son las responsables de la infección hallada en los meses de octubre a diciembre de 1997 y de enero a marzo de 1998, la cual es diferente con lo encontrado por Rangel³⁹ (Figura 5 y 7).

En cuanto a la temperatura del suelo, en el presente estudio en 1997 se observó un promedio de 23°C a 25.5°C, en los meses de marzo a junio, en julio de 39.5°C a 45°C; de agosto a noviembre de 31°C a 33°C, y en diciembre de

29°C. Además en la época de verano y otoño la cantidad de caracoles fue la más alta (Figura 6). En el año de 1998 en enero y febrero, la temperatura osciló de 23°C a 24.5°C entre marzo y septiembre de 29°C a 22°C y se colectó menor cantidad de caracoles.

Ross *et al.*^{44,45} mencionan que en Irlanda, la temperatura promedio mensual fue de 10°C y, señalan que la actividad y la cantidad de los moluscos disminuyeron entrando por lo general a períodos de estivación, además coincide con la disminución de la fasciolosis en los bovinos, en el presente estudio, sin embargo, en la época de lluvias junio y julio de 1997, la fasciolosis en el ganado bovino disminuyó ligeramente, para luego aumentar ligeramente en septiembre y octubre de 1998, con prevalencia del 40%.

Con respecto al tamaño de los caracoles, Morales *et al.*⁴⁶ en Venezuela observó que cuando los caracoles de *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis*, alcanzaban 4.00 mm de altura existía una mayor frecuencia de infección por *F. hepatica*. Manga *et al.*²⁷ mencionan que en España en general los valores de prevalencia e intensidad de *F. hepatica* se incrementan de acuerdo al tamaño de *Fossaria truncatula*. Esos datos concuerdan con el presente trabajo en virtud de que en los meses de agosto y noviembre los caracoles con una altura entre 4.9 mm y 10.5 mm se presentaban fases evolutivas de *F. hepatica*. La temperatura y la humedad en los biotopos 4 y 5 que presentaron *F. humilis*, que además estuvieron infestados con *Fasciola hepatica*, fue prácticamente similar: temperatura 32.5°C y humedad relativa promedio de 46%, en el mes de agosto; en el mes de noviembre la temperatura fue de 33°C y humedad relativa

promedio 45%. El análisis estadístico revela que hay una relación altamente significativa en los caracoles encontrándose en la época de verano y otoño mayor cantidad de moluscos y la humedad relativa no así con la temperatura.

En el presente trabajo en virtud de que solo se encontraron caracoles infectados con fases evolutivas del parásito en agosto y noviembre del 1997, no fue posible analizar los datos estadísticamente; sin embargo, el grado de infección del ganado durante los 19 meses de estudio fue de 70%, lo cual indica que seguramente existió un mayor porcentaje de caracoles infectados mismos que no fue posible monitorear, o puede ser que las cercarias liberadas son suficientes para infectar a todo un rebaño aunque sean pocos los caracoles que portan al parásito (Figura 3). Asimismo, el ciclo evolutivo de *F. hepatica* pudo completarse en el laboratorio y se piensa que la fasciolosis de los rumiantes del rancho universitario (UAH) siempre estará presente mientras no se implementen medidas adecuadas que conduzcan a un control integral de esta parasitosis.

Conclusión

Se concluye que los meses de mayor infección de caracoles *F. humilis* con fases evolutivas de *Fasciola hepatica* fueron agosto y noviembre de 1997. Y la presencia de huevos de *Fasciola hepatica* en las heces de bovinos fue del 100% en los meses de noviembre y diciembre de 1997 y del 80% en enero, febrero y marzo de 1998, esto es en el otoño e invierno.

COLECTA (BIOTOPO) DE *Fossaria humilis* Y SUS FACTORES CLIMATICOS
EN EL RANCHO UNIVERSITARIO DEL MUNICIPIO DE TULANCINGO HIDALGO.

Mar-97	biotopo 1	biotopo 4	biotopo 5
Epoca de sequía			
No.de caracoles		4 <i>Fossaria</i>	21 <i>Fossaria</i>
temperatura	25.5°C(19°C-27°C)	21°C(19°C-23°C)	25.5°C(19°C-27°C)
humedad	38(30%-40%)	45(40%-50%)	45(30%-60%)
pH	10	7	7
Vegetación	poca	poca	abundante
Abril			
Epoca de sequía			
No de caracoles			18 <i>Fossaria</i>
temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
humedad	38.5(30%-46%)	45(40%-50%)	45(30%-60%)
pH	10	7.5	7
Vegetación	poca	poca	abundante
Mayo			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles			20 <i>Fossaria</i>
Temperatura	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)
Humedad	37(29%-45%)	35.5(27%-44%)	35.5(27%-44%)
pH	6	6	7
Vegetación	poca	poca	poca
Junio			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles			2 <i>Fossaria</i>
Temperatura	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)
Humedad	42.5(37%-48)	43(37%-49%)	43(37%-49%)
pH	8.3	8.3	8.3
Vegetación	poca	poca	poca
Julio			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles			61 <i>Fossaria</i>
Temperatura	39.5°C(28°C-51°C)	44.5 °C(31°C-58°C)	44.5°C(31°C-58°C)
Humedad	30.5(22%-59%)	33.5(18%-49%)	33.5(18%-49%)
pH	4.5	5	5
Vegetación	poca	abundante	abundante
Agosto			
Epoca de lluvias			
Número de caracoles			50 <i>Fossaria</i>
Temperatura	32.5°C(29°-36°C)	32.5°C(29°-36°C)	32.5°C(29°-36°C)
Humedad	48.5(40%-56%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)
pH	7	6	6
Vegetación	poca	poca	poca
Septiembre			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles			252 <i>Fossaria</i>
Temperatura	23°C(19°C-27°C)	32.5°C(29°C-36°C)	31°C(25°C-37°C)
Humedad	50.5(46%-55%)	54.5(42%-67%)	54.5(42%-67%)
pH	7	7	7
Vegetación	poca	poca	poca

Octubre			
Epoca de lluvias			
No de caracoles			192 <i>Fossaria</i>
Temperatura	31°C(25°C-37°C)	33.5°C(27°C-40°C)	33.50C(27°C-40°C)
Humedad	32.5(28%-45%)	60(40%-80%)	60(40%-80%)
pH	8.1	8.6	8.6
Vegetación	poca	poca	poca
Noviembre			
Epoca de lluvias			
No de caracoles	2 <i>Fossaria</i>	205 <i>Fossaria</i>	638 <i>Fossaria</i>
Temperatura	33.°C(26°C-40°C)	33°C(26° 40°C)	33°C(26° 40°C)
Humedad	35(30%-40%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)
pH	8	8	8
Vegetación	poca	abundante	abundante
Diciembre			
Epoca de sequía			
No. de caracoles			
Temperatura	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C--31°C)
Humedad	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)
pH	6	5	5
Vegetación	muy poca	muy poca	muy poca
Ene-98			
Epoca de sequía			
No. de caracoles			11 <i>Fossaria</i>
temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
Humedad	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)
pH	5	5	5
Vegetación	muerta	muerta	muerta
Febrero			
Epoca de sequía			
No. de caracoles			8 <i>Fossaria</i>
temperatura	23.5°C(20°C-27°C)	24.5°C(21°C-28°C)	24.5°C(21°C-28°C)
Humedad	22(19%-25%)	22(19%-25%)	22(19%-25%)
pH	6.5	6.5	6.5
Vegetación	muerta	poca	poca
Marzo			
Epoca de sequía			
No. de caracoles			5 <i>Fossaria</i>
Temperatura	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)
Humedad	21(17%-25%)	21(17%-25%)	21(17%-25%)
pH	6.5	6	6
Vegetación	muerta	muy poca	poca
Abril			
Epoca desequia			
No. de caracoles		31 <i>Fossaria</i>	
temperatura	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)
Humedad	27(21%-33%)	27(21%-33%)	27(21%-33%)
pH	5.5	5.5	5.5
Vegetación	muerta	poca	poca

continua cuadro 1

Mayo			
Epoca de sequía			
No. de caracoles	4 <i>Fossaria</i>		
Temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
Humedad	27.5%(20%-35%)	27.5%(20%-35%)	27.5%(20%-35%)
pH	5	5	5
vegetación		poca	muerta
Junio			
Epoca de sequía			
No. de caracoles			
temperatura	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)
Humedad	26%(17%-35%)	26%(17%-35%)	26%(17%-35%)
pH	5	6	6
Vegetación	muerta	poca	muerta
Julio			
Epoca de sequía			
No. de caracoles	18 <i>Fossaria</i>		
Temperatura	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)
Humedad	29%(23%.35%)	29%(23%.35%)	29%(23%.35%)
pH	6	6	6
vegetación	6	6	6
Agosto			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles	4 <i>Fossaria</i>		
Temperatura	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)
Humedad	28.5%(20%-37%)	28.5%(20%-37%)	28.5%(20%-37%)
pH	7	7	7
Vegetación	muerta	muerta	muerta
Septiembre			
Epoca de lluvias			
No. de caracoles	129 <i>Fossaria</i>		
Temperatura	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)
Humedad	55%(40%-70%)	55%(40%-70%)	55%(40%-70%)
pH	7	7	7
Vegetación	abundante	abundante	abundante

Cuadro 2

SITIO DE COLECTA DE *Fossaria humilis* EN EL RANCHO UNIVERSITARIO LOCALIZADO EN EL MUNICIPIO DE TULANCINGO, HGO.

Meses	biotopo 1	2	3	biotopo4	biotopo 5
Mar-97				4	21
Abr					18
May					20
Jun					2
Jul					61
Ago					50
Sep					252
Oct					192
Nov	2			205	638
Dic					
Ene-98					11
Feb					8
Mar					5
Abr				31	
May				4	
Jun					
Jul	18				
Ago	4				
Sep	129				
Totales	153			244	1278
Promedio	8			12.8	67.2

Biotopo 2 y 3 no se encontró caracoles.

Figura 1
Colecta de *Fossaria humilis* en los biotopos 1,4, y 5 en el rancho localizado en el municipio de Tulancingo, Hgo.

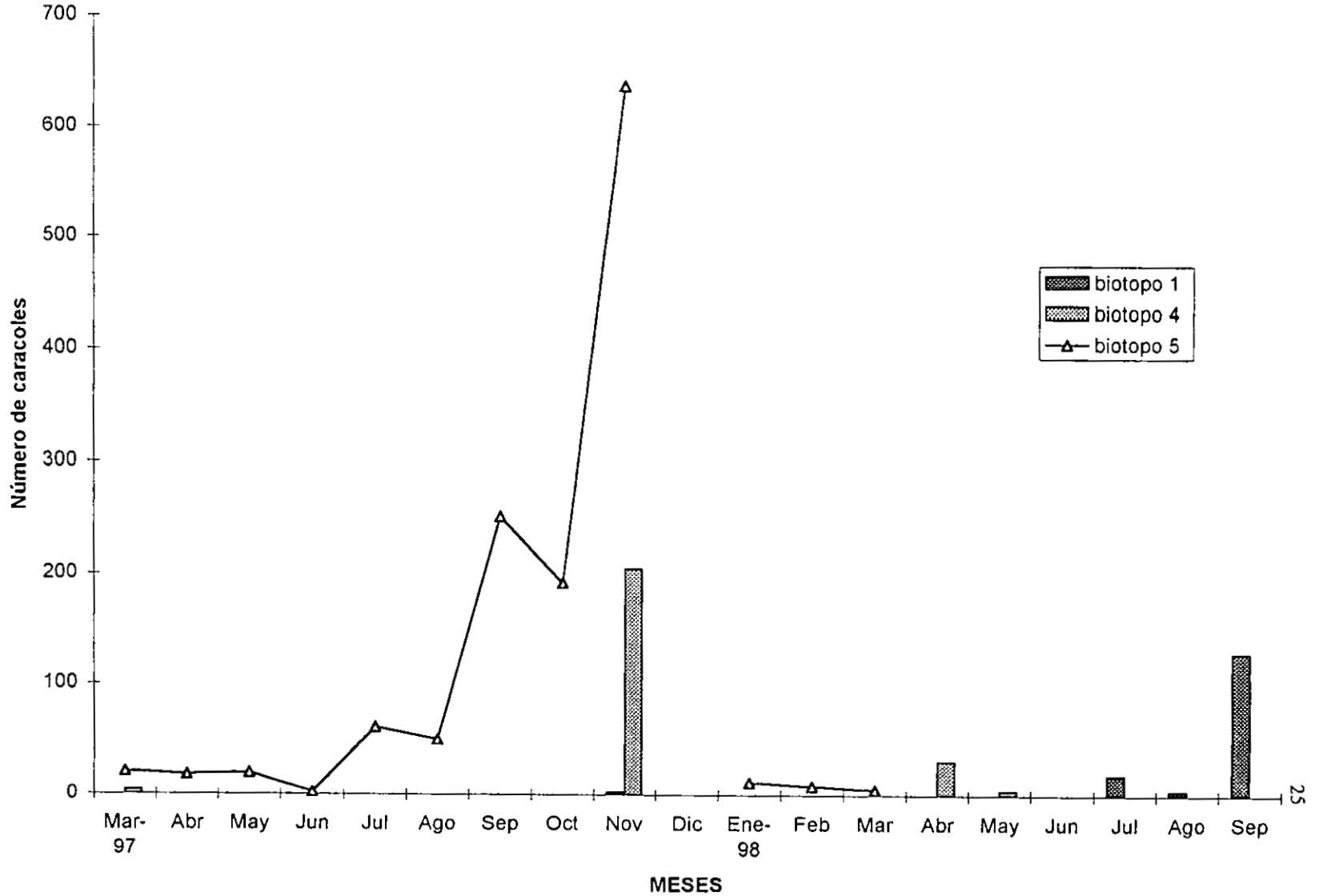
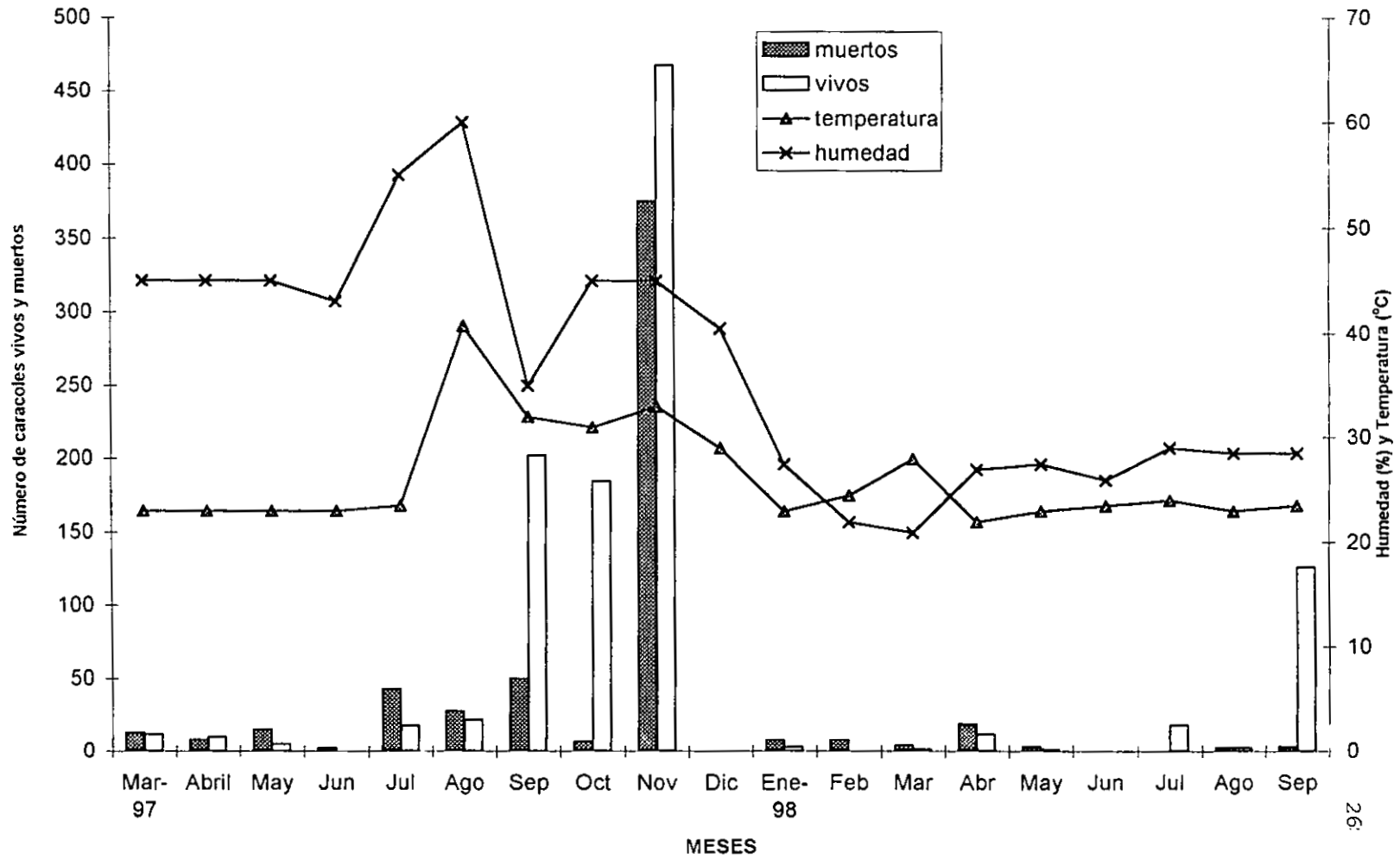


Figura 2
***Fosaria humilis* muertos y vivos con relación a la temperatura y la humedad en el rancho del municipio de Tulancingo, Hidalgo.**



Cuadro 3

MEDICIÓN DE *Fossaria humilis* COLECTADOS CADA MES EN EL RANCHO (UAH) LOCALIZADO EN EL MUNICIPIO DE TULANCINGO, HIDALGO.

Meses	Mar-97	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	
	19*(6.9-4.2)**	18(6.5-3.7)	20(8.5-5.4)	2(5.9 - 3.2)	19(7.2-40)	49(10.5-6)	252(5-3)	192(7-4)	751(4.9-2.9)	
Meses	Diciembre	Ene-98	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
	***	11(7.6-4.4)	8(8- 4.5)	5(6.16-4.0)	20(6.8-4)	4(8.3-4.3)	***	18(5.7-3)	4(6-4)	119(10.5-5.0)

*= Número total de ejemplares medidos/mes

**= Altura y diámetro promedio en mm

***= Diciembre del 1997 y Junio de 1998 no se encontraron caracoles

Cuadro 4

FASES EVOLUTIVAS DE *Fasciola hepatica* DE *Fossaria humilis* OBTENIDOS POR MEDIO DE LA BOLSA DE NYLON COLECTADOS EN EL RANCHO DE LA UAH DE TULANCINGO, HIDALGO.

Meses	Número de caracoles	Número de caracoles y esporoquiste	Número de caracoles y de redias	Porcentaje de esporoquistes	Porcentaje de redias	Porcentaje evaluado con el intervalo de confianza al 95%
Ago-97	17 ¹ (5)		1 ¹ (4)* 4(6)			
Total			5(28)	0	29	
Nov-97	325 (19)	2 ² (1) 1(3) 1(7) 1(5) 2(6)	3(4) 2(8) 7(1)			
Total		7(29)	12(34)	2.1	3.69	
Totales	588**					2-5%

¹= Número de caracoles fuera del paréntesis

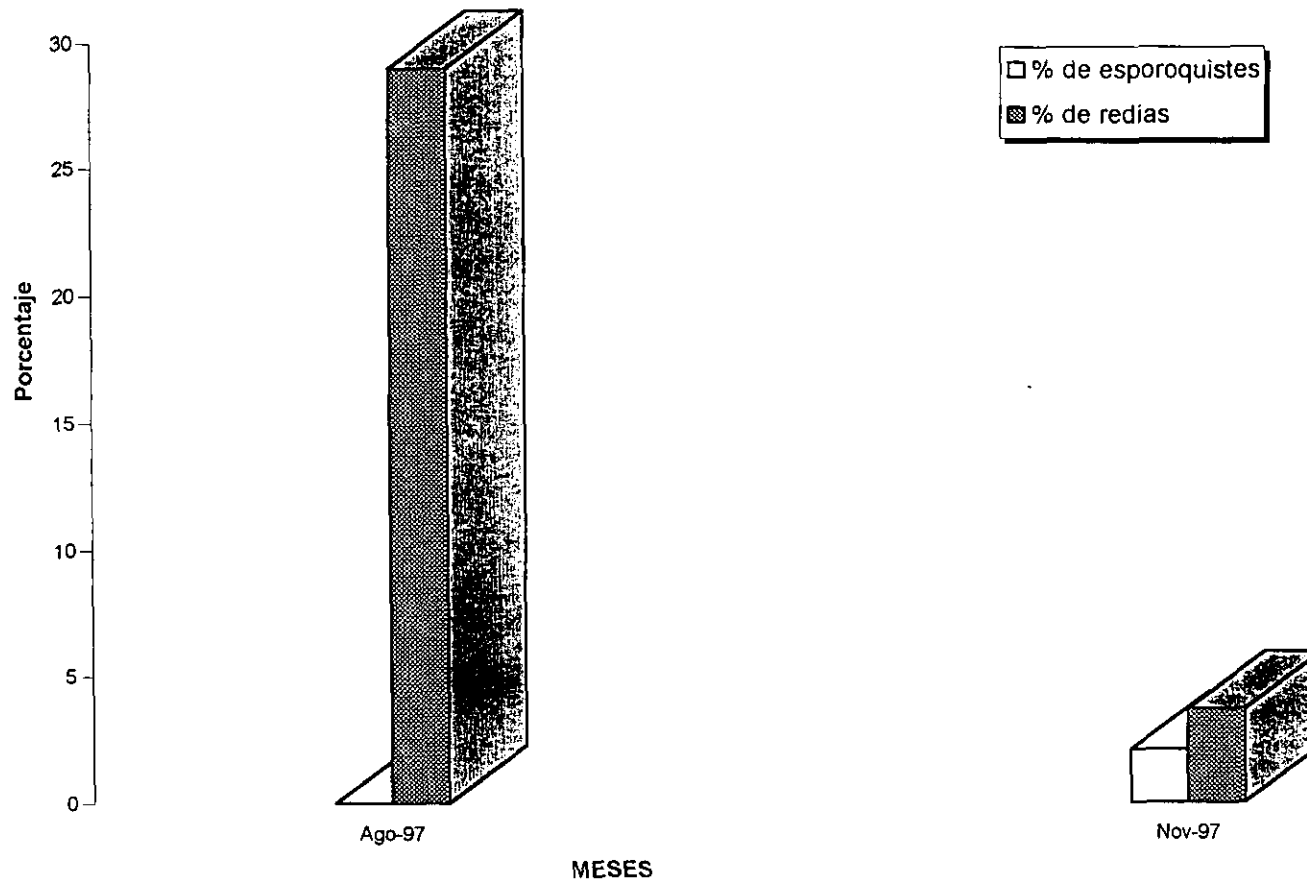
Entre paréntesis número de caracoles positivos

*= Número de redias

²= Número de caracoles fuera del paréntesis y entre paréntesis número de esporoquistes

** = Número de caracoles muertos después de llegar al laboratorio durante los 19 meses muestreados

Figura 3
Porcentaje de esporoquistes y redias de *F. hepatica* en *Fossaria humilis* del rancho (UAH) localizado en el municipio de Tulancingo, Hgo.



Cuadro 5

LIBERACION DE CERCARIAS DE *F. hepatica* de *Fossaria humilis* PROVENIENTES DEL
RANCHO UNIVERSITARIO (UAH)*

MESES	Número de caracoles vivos	Número de caracoles positivos	Número de caracoles y Número de cercarias	Porcentaje de infección de los caracoles
Ago-97	12	6	1caracol/2 1caracol/6 2caracoles/3 2 caracoles/5	
Total			(6 caracoles /24 cercarias)	50%
Nov-97	17	8	1 caracol/6 2 caracoles/1 2 caracoles/16 3 caracoles/2	
Total			(8caracoles/46 metacercarias)	47%
Totales	1085**	14		1.1-2.4***

* = Universidad Autónoma de Hidalgo

**= Número de caracoles vivos colectados en los 19 meses

***= Estimado como porcentaje de infección global en los 19 meses de estudio, obtenido por el método del intervalo de confianza al 95%.

Figura 4

Porcentaje de infección de *Fossaria humilis* con cercarias durante un año y medio colectados en el rancho (UAH) localizado en el municipio de Tulancingo, Hidalgo.

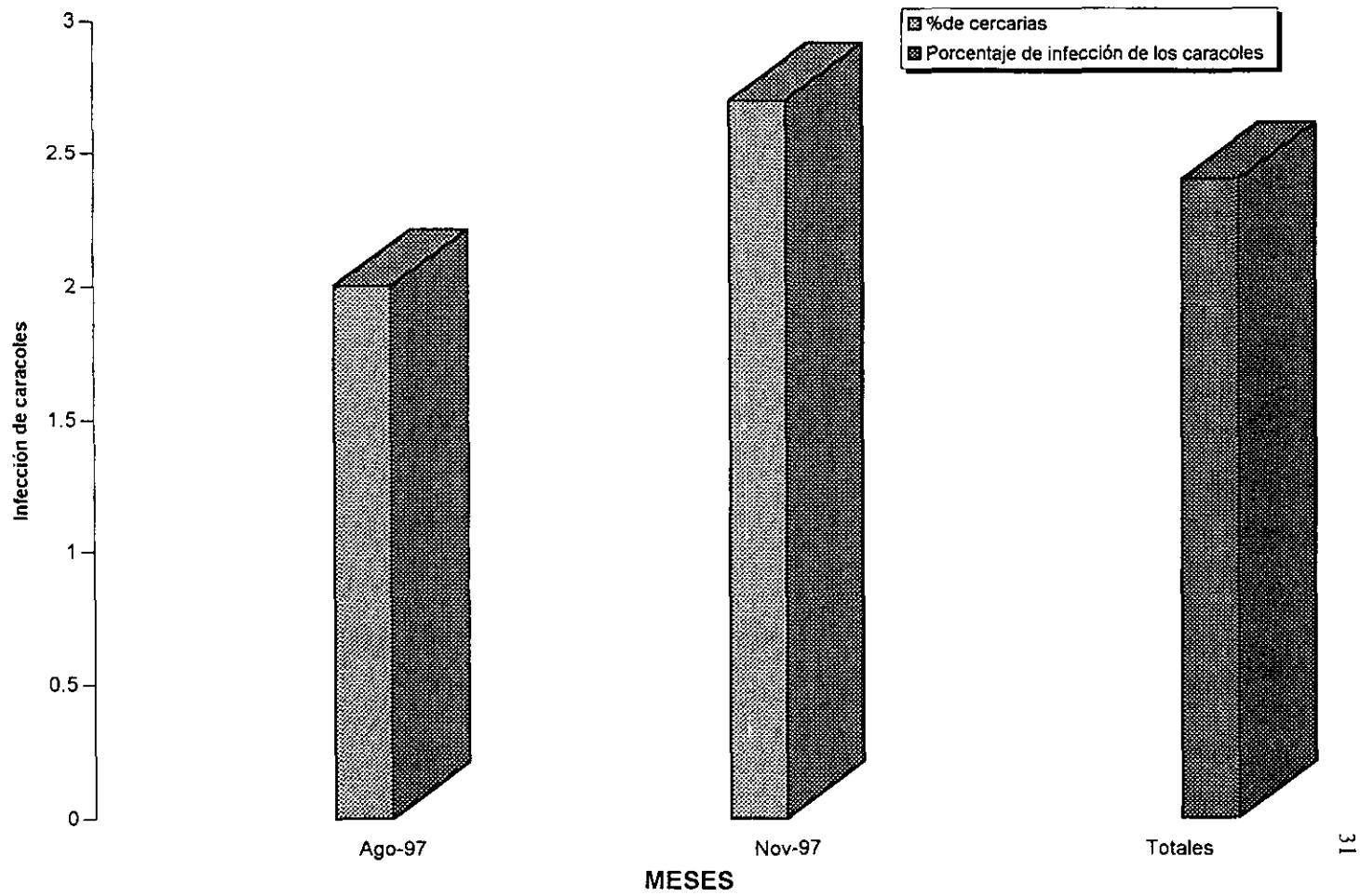
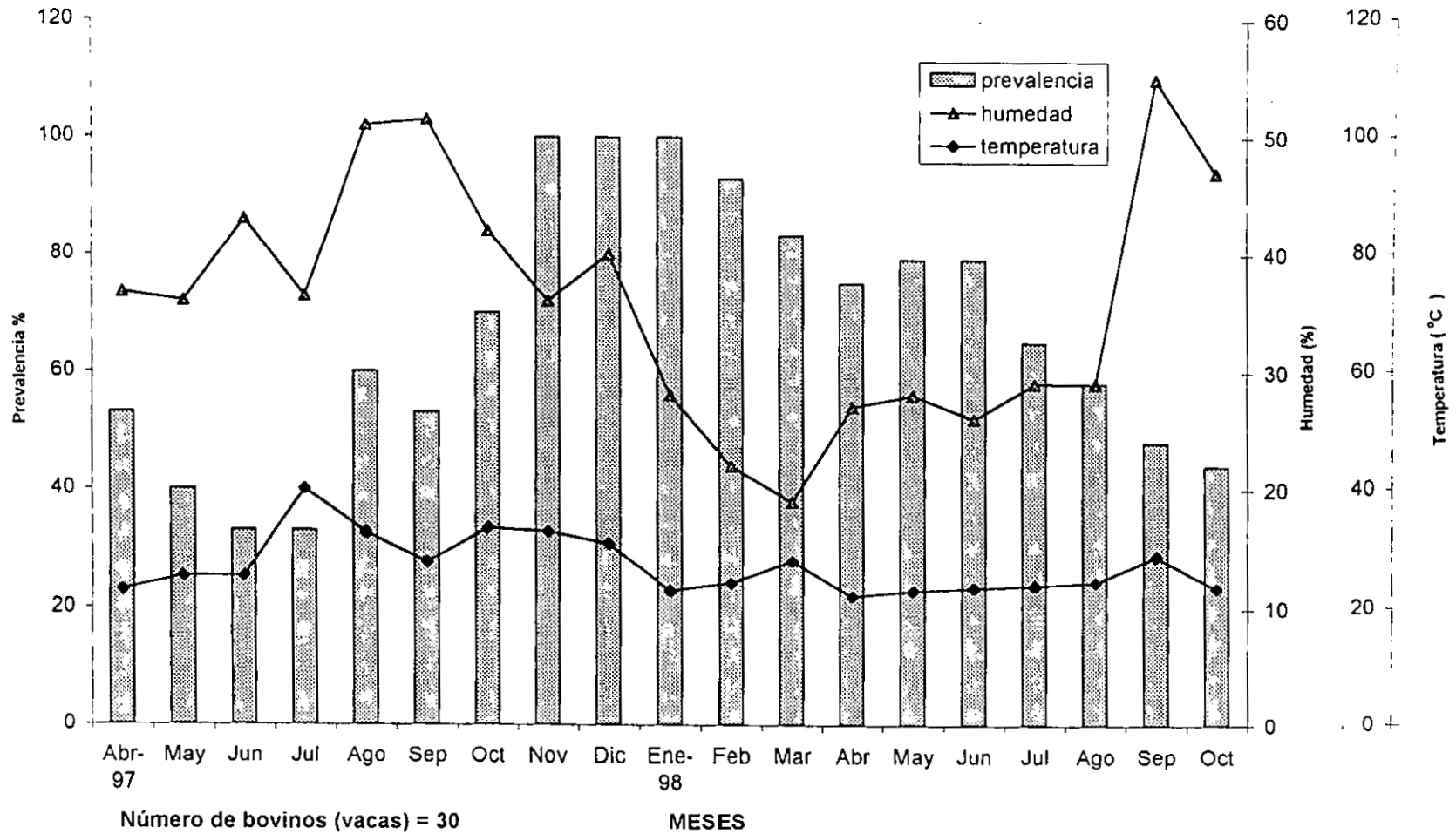


Figura 5
Prevalencia de Fasciolosis bovina y su relación con los factores ambientales en el rancho
Universitario de la UAH*



* Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Figura 6
Prevalencia de huevos de *Fasciola hepatica* en el ganado bovino y número de caracoles de *Fossaria humilis* con relación a la temperatura y la humedad

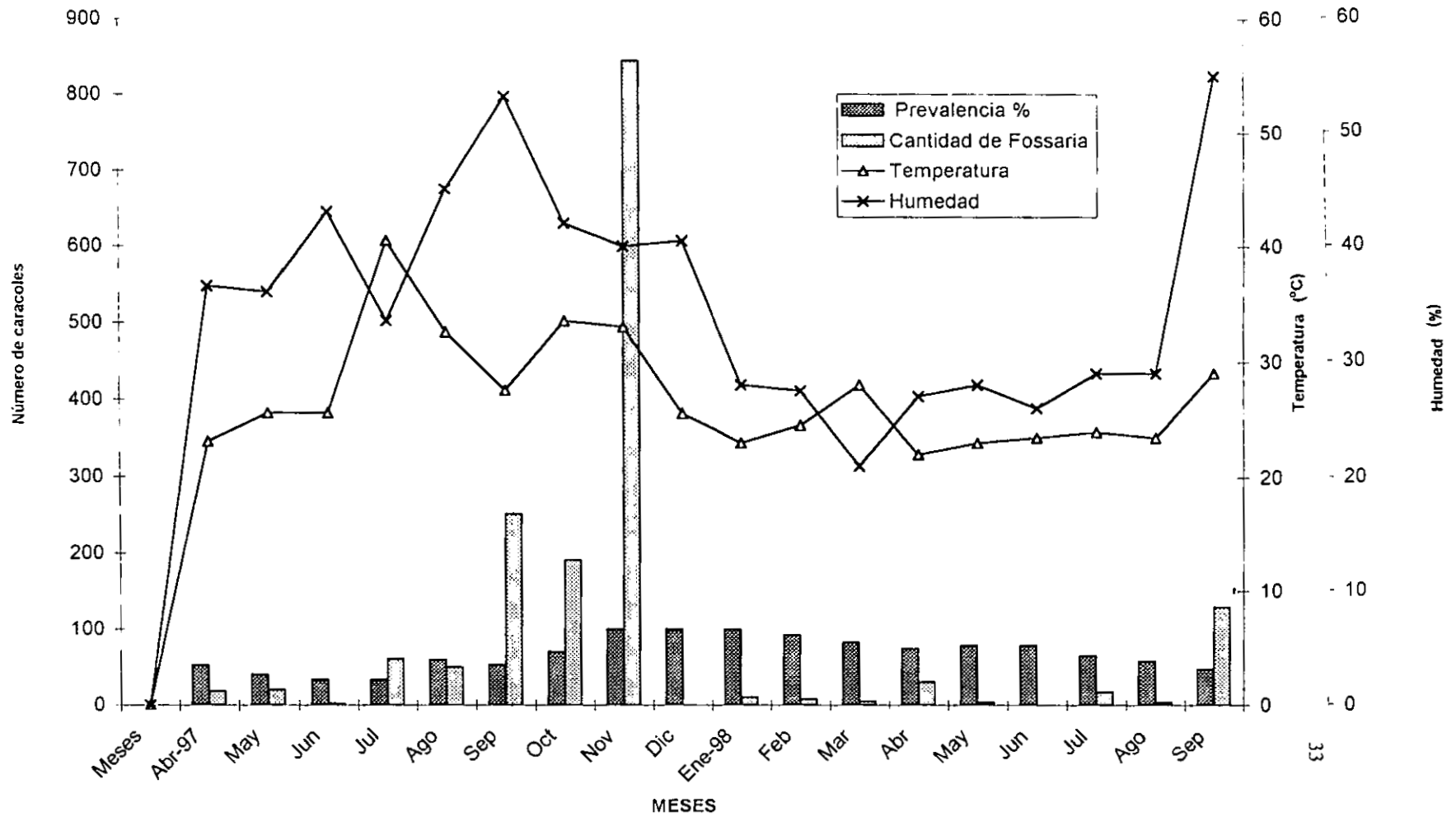


Figura 7
Prevalencia de huevos de *Fasciola hepatica* en el ganado bovino y el porcentaje de infección de *Fossaria humilis* con relación a la temperatura y la humedad

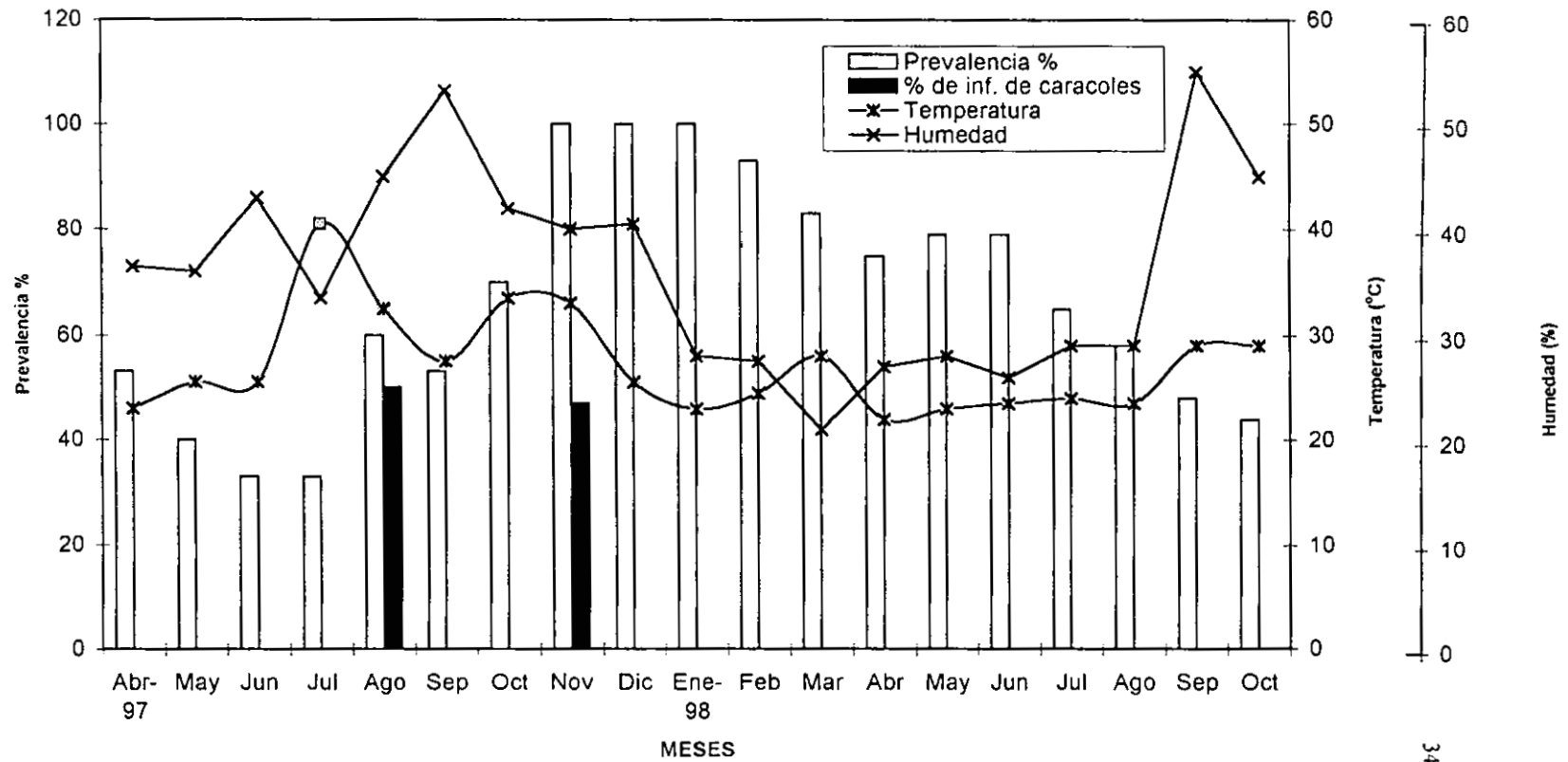
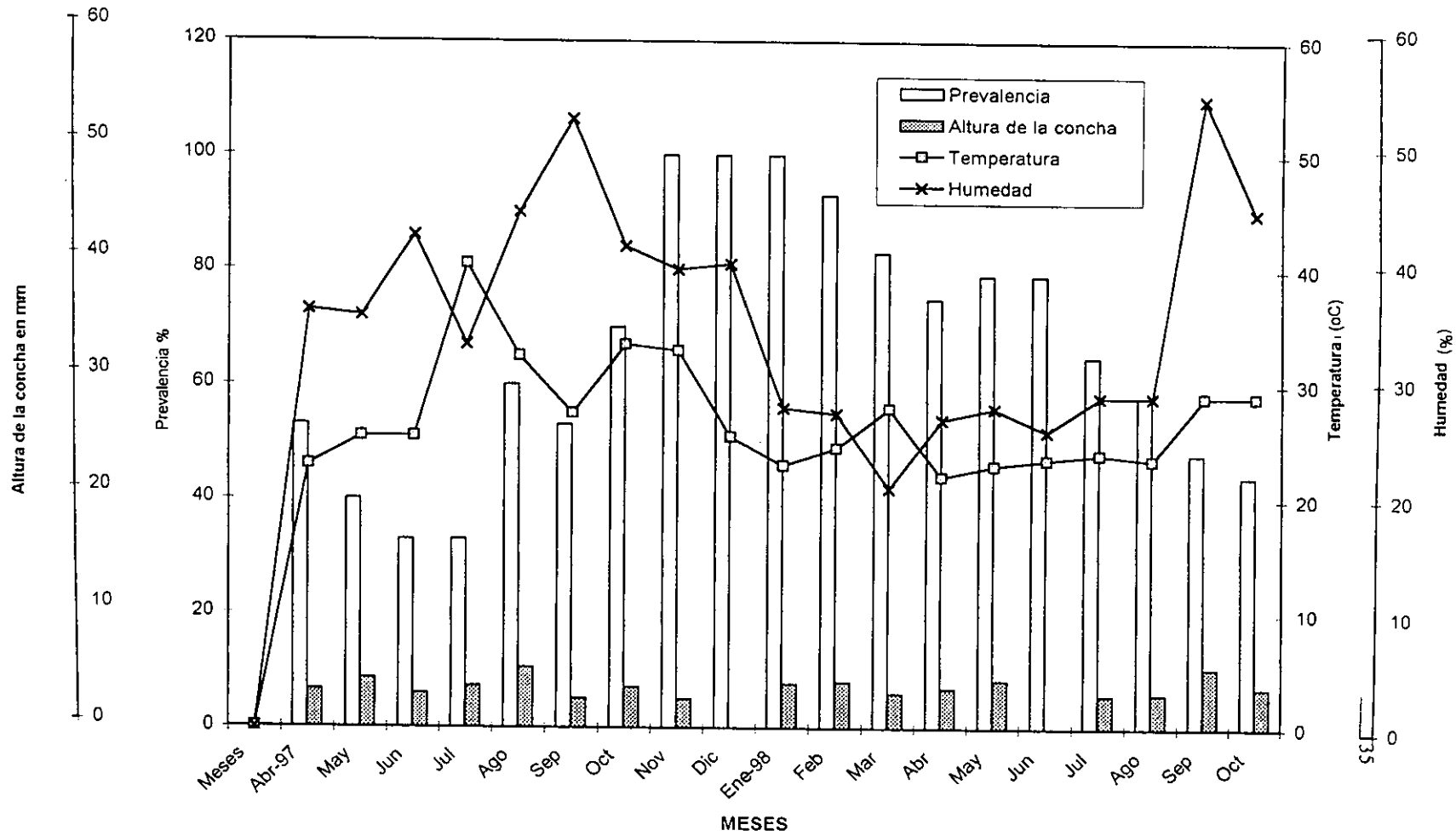


Figura 8
 Prevalencia de huevos de *Fasciola hepatica* en el ganado bovino y altura de la concha de *Fossaria humilis* con relación a la temperatura y la humedad



PROTOCOLO 2

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA POBLACIÓN DE CARACOLES HUESPEDES INTERMEDIARIOS Y NO INTERMEDIARIOS DE *Fasciola hepatica* EN EL RANCHO UNIVERSITARIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE HIDALGO LOCALIZADO EN TULANCINGO, HGO.

Introducción

Clasificación taxonómica

De las seis clases del Phylum Mollusca existentes, la clase Gastropoda y la Bivalvia son las que incluyen casi la totalidad de las especies de moluscos que actúan como huéspedes intermediarios de Digenea. Los miembros de la clase Gastropoda adaptados a vivir en el mar (60,000 especies), en el agua dulce (4,000) y en la tierra (30,000), se incluyen en 3 subclases: Opisthobranchia, Prosobranchia y Pulmonata, siendo las 2 últimas las mas importantes en Parasitología Veterinaria. La subclase Pulmonata, que agrupa en mayor parte, especies terrestres, además del Superorden Stylommatophora, Systellommatophora en el Superorden Basommatophora las especies de agua dulce pero que también incluye algunas especies marinas⁴⁷, tienen la cavidad del manto vascularizado en forma de pulmón; son hermafroditas, con el orificio genital común para la parte masculina y femenina (Stylommatophora), o con dos orificios separados (Basommatophora). Además, las especies de Stylommatophora poseen dos pares de tentáculos uno anterior corto y otro posterior largo con los ojos colocados en su extremo, y las de Basommatophora tienen un solo par de tentáculos con los ojos colocados en la base de los mismos. Las principales familias de moluscos

Basommatophora importantes como primeros huéspedes intermediarios (H. I.) de Digenea son Lymnaeidae, Physidae y Planorbidae. De igual forma, las principales familias Stylommatophora citadas también como primeros H.I. de Digenea son: Achatinidae, Bradybaenidae, Cochlicopidae, Chondrinidae, Enidae, Helicidae, Subulinidae y Succineidae^{47,48,49,50}.

Características generales de los moluscos

Los moluscos son animales de cuerpo blando; poseen conchas protectoras y de soporte hechas principalmente de carbonato de calcio. El caracol se mueve por contracciones ondulantes de los músculos del pie sobre una cubierta de moco secretado por la glándula individual secretora de mucosa. Debido a la apariencia constante de la concha, las características de ésta son muy importantes para el reconocimiento del género y familia y en general para la ubicación a nivel de especie^{49,50}. El tamaño es un carácter esencial para la identificación de caracoles adultos. La concha tiene diversas formas según el género de que se trate, las conchas pueden ser desde muy alargadas hasta globosas, comprimidas y discoidales. La concha puede ser mas alargada que ancha, o más ancha que alargada (la columela determina el eje anteroposterior, relacionando la altura y ancho de la concha). Las vueltas o giros de la concha pueden estar dirigidos, a la derecha o la izquierda, sin embargo las conchas dextrógiras son más comunes. Estas vueltas pueden tener el borde redondeado, en forma angular o aplanado y tener suturas tenues o muy pronunciadas. La concha también puede tener pocas o muchas vueltas así como

carecer de una abertura en su base (ombligo) o tener una abertura umbilical angosta o ancha. El labio exterior puede ser recto o ligeramente curvado y en ocasiones doblado hacia atrás. La concha puede presentar diversas coloraciones o carecer de color. La escultura de la concha presenta ornamentaciones o es lisa. El contorno de la abertura de la concha ("boca") puede tomar diferentes formas debido al patrón estructural de la espira y su relación con cada giro de ésta última. La abertura puede ser cerrada o no mediante una tapa llamada opérculo, la cual por sí misma tiene importantes características útiles para la identificación a varios niveles taxonómicos^{28,29}.

Richard⁴⁹ y Robert⁵⁰ mencionan que los caracoles de agua dulce o anfibios que viven en el lodo son numerosos en riachuelos y estanques, muchos gasterópodos de agua dulce, terrestres y marinos sirven de huéspedes intermediarios a varios trematodos como *Fasciola hepatica*, sin embargo, éstos caracoles raramente llegan a vivir en aguas muy profundas.

Los caracoles del género *Fossaria* = *Lymnaea* son moluscos gasterópodos pulmonados de la familia Lymnaeidae, de hábitos dulceacuícolas con una distribución cosmopolita de los cuales se han identificado más de cuarenta y cinco especies como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758).^{51,52,53,54}

Existen diferentes nombres con los que se conoce a las especies de la familia Lymnaeidae³¹ según la escuela taxonómica. Por esta razón una misma especie, puede recibir distintos nombres, por ejemplo, la especie *Lymnaea*, (*Pseudosuccinea*)

columella es nombrada así por Ponder⁵⁵ y Malek⁵⁶, o bien como *Lymnaea columella* por Hubendick²⁹ y Harris⁵⁷ o como *Pseudosuccinea columella* por Malek⁵⁸ y Burch^{28,59} y autores como Kendall⁶⁰, Taylor⁶¹ y Boray⁶² siguen esta clasificación. Sin embargo, Jackiewicz⁶³ y Malek⁵⁶ dan otros nombres de géneros como *Galba*, *Stagnicola*, *Fossaria* y otros más en lugar del género *Lymnaea*. Hubendick²⁹ basó la mayor parte de la revisión de la familia Lymnaedidae en el tamaño y forma de los órganos del sistema reproductor, describiendo en su trabajo aproximadamente 35 especies de *Lymnaea* entre las que se encuentran algunas de las que hay en México^{52,54,64}. Burch⁵⁹ y Malek⁵⁶ mencionan que en algunos grupos de caracoles, las características de las partes blandas son esenciales para la identificación, debido a que varios de esos grupos tienen conchas que pueden ser relativamente uniformes o tienen pocas características distintivas. Esto dificulta la identificación; sin embargo, se puede facilitar con un estudio cuidadoso de ilustraciones de conchas y tomando en consideración el conocimiento que se tenga de la distribución de las especies.

Antecedentes sobre huéspedes y no huéspedes intermediarios de *F. hepatica*.

Se han realizado estudios con respecto a los caracoles del género *Fossaria humilis* en diversas partes del mundo.

Mc Craw³⁰ en Michigan 1956 estudia la anatomía de *Lymnaea humilis* comparándolo con *Lymnaea stagnalis*.

En Canadá Pantelouris⁶⁵ en 1965 menciona a *Lymnaea humilis* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*.

En México se han realizado varios trabajos con respecto a la identificación de *Fossaria humilis* huésped intermediario de *Fasciola hepatica*: Mazzotti^{5,6}, en 1955 y 1956 identificó a *Lymnaea ohrusa* y *L. humilis* como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*.

Landeros *et al*³⁷, en Tulancingo, Hgo, México determinaron al caracol *Lymnaea humilis* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*.

Castro *et al*⁵⁴, en 1983, identifica a *L. humilis* en un trabajo sobre la epidemiología de *Fasciola hepatica* en bovinos.

Castro *et al*⁵², en 1982, identificó a los moluscos *Lymnaea cubensis* y *L. humilis* como transmisores de *Fasciola hepatica* en Puebla.

Santos⁶⁶ en 1984 presentó datos preliminares sobre la prevalencia de *Fasciola hepatica* en dos especies de caracoles: *Fossaria humilis* (Say) y *F. (Bakerilymnaea) cubensis* de Atlangatepec, Tlaxcala.

Vera³⁶ 1985, menciona a *Lymnaea bulimoides*, *L. cubensis* y *L. humilis* en Tulancingo, Hidalgo., como huéspedes intermediarios del trematodo.

Yong *et al*^{67, 68}, estudian la morfología externa e interna de los huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*, describiendo la concha de los hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica*.

Rangel⁶⁹ (1995), determina a *Fossaria viatrix* en Tabasco, como huésped intermediario de *F. hepatica*.

Con respecto a algunos estudios realizados sobre moluscos que no intervienen en el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* y su distribución se menciona: a Paraense⁷⁰ quien comunica que *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* ha sido registrada en

Philadelphia, Pensilvania, USA., descrito bajo el nombre de *Planorbis trivolvis* Say, 1817, también ha sido registrada en Guatemala, Nicaragua, Panamá, México, St. Croix, Puerto Rico, Cuba, Jamaica, Haití, en Sudamérica en Ecuador, Perú, Colombia y Brazil. Este mismo autor lo describe como *Helisoma trivolvis* en la región Neotropical de Estados Unidos.

Contreras⁷¹ comunica que en México se tienen reportes de colecta de *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz y en el estado de México.

La familia Physidae agrupa a caracoles que son muy abundantes en el nuevo mundo. Paraense⁷² en la Habana, Cuba identificó al género y la especie *Physa cubensis*.

Con respecto a la familia Succineidae, Quick⁷³ realizó estudios en la región del Sur de Estados Unidos sobre la anatomía de *Succinea vaginacontorta* y *S. avara*.

Fransen⁷⁴ en la Universidad de Michigan en Estados Unidos estudió la anatomía y distribución geográfica de *Succinea vaginacontorta* Lee.

Patterson^{75,76} estudió en América la familia y taxonomía de los Succineidae

Otra de las familias es Helicidae de la cual Manga⁷⁷ publicó un trabajo sobre Helicidae (Gastropoda, Pulmonata) en donde estudia a *Helix aspersa* en la provincia de León España.

Justificación

Como puede observarse la información malacológica es amplia en otras regiones del mundo pero poco se sabe sobre la fauna malacológica existente en México.

Por tal razón es relevante determinar la fauna malacológica en el rancho universitario de la Universidad Autónoma de Hidalgo en el municipio de Tulancingo, para conocer las diferentes especies de caracoles que comparten el nicho ecológico con los huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* y establecer en el futuro programas de control biológico o químico.

Objetivo

En el presente estudio fue: Identificar y cuantificar las poblaciones de caracoles huéspedes intermediarios y no intermediarios de *Fasciola hepatica* en el predio donde se ubica el rancho universitario de la UAH.

Material y Métodos

La localización del sitio de estudio, los biotopos y la colecta de caracoles se efectuó de acuerdo a lo descrito por Manga González²⁷ y se describen en el protocolo 1.

A continuación se describen actividades realizadas en el laboratorio

Etapas manejo de caracoles en el laboratorio

Los caracoles colectados fueron transportados al Depto. de Parasitología de la

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia, en bolsas de plástico con agua, y lodo según el hábitat natural del caracol. En el laboratorio se practicaron los siguientes pasos.

- a) A cada caracol se le identificó a género como huésped o no huésped intermediario de *Fasciola hepatica*, observando las características morfológicas externas.
- b) Se tomaron medidas de las conchas considerando alto y ancho (Cuadro 3) en el protocolo 1.
- c) Se cuantificaron los caracoles huéspedes y no huéspedes intermediarios de *F. hepatica*.
- d) Se disectaron 25 caracoles huéspedes intermediarios de *F. hepatica*.
- e) Se disectaron 5 caracoles del género *Planorbella*.
- f) Se disectaron 5 caracoles del género *Physa*.

Análisis de los resultados.

1. Los datos sobre colecta de caracoles fueron organizados por mes durante los 19 meses de muestreo, obteniendo porcentajes y promedios.
2. Medición de moluscos. Se midieron las conchas, expresando las medidas en milímetros (mm).
3. Temperatura y humedad relativa del suelo en los biotopos.- Se anotaron los valores de temperatura en grados centígrados (°C) y la humedad relativa (%) en porcentaje, presentando para los valores la máxima y, mínima y el promedio.

Resultados

Identificación de los moluscos.- a) del huésped intermediario de *F. hepatica*: *Fossaria humilis* se observaron algunas características morfológicas en caracoles vivos, como el color del pie y del cuerpo el cual era gris claro u oscuro, ocasionalmente el dorso del cuerpo era casi negro. Los tentáculos triangulares y los ojos (aproximadamente 100 micras de longitud) localizados en su base en el ángulo anterior externo.

Se disectaron 25 caracoles con un promedio de altura de 12 mm y de diámetro 7.5 mm, observándose lo siguiente: el poro genital masculino se halló en el ángulo posterior en la base del tentáculo derecho midiendo aproximadamente 198 micras de longitud. El manto de color gris oscuro y muy pigmentado sobre la masa visceral y, en algunas áreas no presentaba pigmentación. A través del manto se observaron las siluetas de los órganos sexuales, el poro genital femenino se encontró cerca del pneumoporo que es una abertura de la cavidad del manto (395 micras) de tejido distinto. El receptáculo seminal se observó de color naranja brillante. El riñón plano, amplio de color blanco cremoso.

El sistema reproductor se observó en tres porciones. El ovotestis y su conducto, la porción de la hembra y la porción del macho. El aparato femenino consiste en un oviducto angosto, el útero, la glándula ootecal de Holm y la vagina. El receptáculo seminal esta íntimamente asociado con la porción izquierda posterior de la glándula ootecal y es visible debajo del corazón. El aparato reproductor del macho consta de la

próstata, y el órgano copulatriz, McCraw³⁰ menciona que el vaso deferente se considera ausente en *Fossaria humilis*.

b) Con respecto a los caracoles no huéspedes intermediarios de *F. hepatica* que fueron estudiados se observó lo siguiente:

Succinea sp.- Su concha es delgada, brillante de color amarillo claro transparente y en algunas ocasiones de color amarillo marrón en forma alargada presentando estrías muy finas en la superficie del cuerpo con concha dextrógira (enrolladas hacia la derecha) con el manto liso.

Physa cubensis.- El cuerpo es ovoide-oblongo, con espira elevada, larga y cónica, con cinco giros y hombro moderadamente saliente, convexos redondeados y el penúltimo expandido, Abertura elongada con una media 2.27 mm. Son de color amarillo claro a oscuro con concha levógira (enrollada hacia la izquierda) y el borde del manto digitado. Del aparato reproductor: el ovotestis, ovispermiducto, vesícula seminal, oviducto, glándula nidamental, útero y vagina; el espermiducto, próstata y vaso deferente como en *Physa marmorata*⁷².

Planorbella (Pierosoma) trivolis.- El cuerpo es de color gris a blanquecino, los tentáculos son filiformes, delgados, ojos situados en la base anterior de los tentáculos. Los de tamaño grande con peristoma continuo bien marcado y unido a la pared parietal, lado izquierdo cóncavo, espira hundida poco profunda y aplanada, lado

derecho en forma de tubo con una fuerte depresión central suturas bien marcadas y profundas. La escultura consiste de líneas de crecimiento finas y cordones transversales bien marcados y en ocasiones tienen una apariencia particular cuando se presenta estriás longitudinales y transversales. Pié ovalado elongado obtuso anteriormente y redondo en la parte posterior. Collar del manto grueso blanquecino.

Al disectar cinco caracoles se observó la cavidad del manto gris claro a oscuro uniformemente, en ocasiones con manchas irregulares de pigmentos, desde el collar hasta el pericardio. Abertura del sistema reproductor, excretor digestivo y el pneumostoma o poro respiratorio situado del lado izquierdo del molusco, presentan una abertura de ovalada a acorazonada. Ovotestis formada por lóbulos sacciformes simples, arreglados en hileras oscilando entre 145 y 251: bipectinado en ambos lados. Oviducto delgado y corto, glándula nidamental de la longitud del tracto femenino con 5-8 lóbulos arborescentes y compactos, prepucio más largo que la bolsa de pene; la glándula del prepucio presente. La estructura externa de *Helix aspersa* se observó con bandas espirales de color café obscuro a claro con cuerpo de color amarillo, de forma larga y globosa con presencia de ombligo imperforado.

Mediciones de caracoles.- Se da el promedio de las medidas tomadas a los caracoles, en las medidas de *Fossaria humilis* obtenidos en septiembre de 1998, el tamaño promedio de los caracoles mas grandes fue de 10.5 mm de altura y 5.0 mm de diámetro obtenidos en septiembre de 1998. Los caracoles más pequeños midieron 4.9 mm de altura y 2.9 mm de diámetro y, fueron del mes de noviembre de 1997 (Cuadro 1). De *Succinea* sp. las conchas mas grandes obtenidas midieron 13.4 mm de

altura y 8.0 mm de diámetro y, fueron del mes de mayo de 1997. En abril de 1998 se midieron 141 caracoles con altura de 13.04 y de diámetro 7.3 mm (Cuadro 1). Las medidas de *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* Say fueron: 13.3 mm de altura y 7.3 mm de diámetro obtenidos en julio y octubre de 1997, los mas pequeños midieron: 7.0 mm de altura y 6.0 de diámetro colectados en marzo de 1997.

La de altura máxima de *Helix aspersa* fue 21.00 mm y el diámetro 18.8 mm y, se obtuvo en febrero de 1998 y, la mínima fue 7.5 mm de altura y 5.7mm de diámetro colectados en septiembre de 1998.

Los ejemplares de *Physa cubensis* colectados en julio de 1998 midieron de altura 20.0 mm y de diámetro 10.6 mm.

Cuantificación de los moluscos.- Entre marzo de 1997 a septiembre de 1998, se colectó un total de 5174 moluscos del rancho Universitario de la UAH; de los 5 biotopos estudiados; se identificó a *Fossaria humilis* huésped intermediario de *Fasciola hepatica* obteniendo un total de 1673 (32.2%) moluscos, de los cuales 1085 estaban vivos, (Cuadro 2). Los moluscos no huéspedes intermediarios de *F. hepatica* fueron *Succinea* sp. 2783(53.7%), *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* 348(6.3%), *Physa cubensis* 279 (5.3%) y *Helix aspersa* 91(1.7%) (Cuadro 2 y Figura 1). En el cuadro 3, se observan los sitios de colecta de diferentes especies de caracoles, así como la temperatura y humedad relativa del suelo. En el mes de noviembre se obtuvieron mayor cantidad de caracoles *Fossaria humilis* 468 vivos y 375 muertos, *Succinea* sp. vivos 320 y 480 muertos, en septiembre *Physa cubensis* 13 vivos y 55 muertos, *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* en el mes de septiembre se colectaron solo 20 muertos, *Helix aspersa* en febrero de 1998, 8 caracoles vivos y

24 muertos Cuadro 2).

De manera general el género *Succinea* se presentó en mayor abundancia que *Helix aspersa* (Cuadro 2). Con relación a la temperatura y humedad relativa del suelo en los biotopos 1,4, y 5 en donde se encontró *F. humilis* fue mas alta en el mes de noviembre de 1997, con una temperatura promedio de 33.3°C, la humedad relativa de 45% y un pH de 8; la vegetación fue abundante en la época de lluvias (Cuadro 3).

Succinea sp. fue mas manifiesta entre marzo y septiembre de 1997; sin embargo, declina bruscamente el hallazgo de vivos y muertos en octubre y continúa bajo en los siguientes meses. Con relación a los factores ambientales obtenidos en los biotopos en donde se encontró *Succinea* sp. se registró una temperatura promedio que varió entre 22°C y 32.5°C, una humedad relativa de 38% a 50.5%, un pH de 5 a 8.6 observando poca vegetación en los biotopos 1,2,3,4 y 5 en la época de sequía de marzo abril y, de lluvias mayo a septiembre continuando en octubre y noviembre con poca lluvia (Cuadro 3).

Los caracoles observados en menores cantidades fueron *Physa cubensis* *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* y *Helix aspersa* (Cuadro 2). La temperatura promedio fue de 23°C – 33°C la humedad relativa de 29%; el pH varió con la época del año: fue más básico en la temporada de lluvias y más ácido en la de sequía en todos los biotopos (del 1 al 5); además en la época de sequía la vegetación fue poca o estaba muerta en todos los biotopos (Cuadro 3).

Discusión

En el presente estudio se identificó a *Fossaria humilis* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica* y, como fauna asociada (huéspedes no intermediarios de *F. hepatica*) se encontraron 4 géneros de moluscos (*Succinea* sp. *Physa cubensis*, *Planorbella* (*Pierosoma*) *trivolis* y *Helix aspersa*). Rangel⁶⁹ menciona que *Succinea* sp. convive con *Fossaria viatrix*, en el municipio de Teapa, Tabasco. Perera et al³⁸ registra que *Succinea* sp. convive con *Pseudosuccinea columella* y *Fossaria cubensis*, mencionando que pudieran confundirse estos 3 caracoles. Sin embargo, en este estudio las especies encontradas son lo suficientemente diferentes para distinguirlas.

Con respecto a las otras especies de moluscos asociadas a *F. humilis*, los succineidos fueron estudiados por sus características externas. Con respecto a *Physa cubensis* y a *Planorbella* (*P.*) *trivolis* su identificación fue por medio de la genitalia y *Helix aspersa* se identificó observando sus características externas que son inconfundibles debido al color y tamaño del caracol lo que concuerda con la descripción dada por Manga⁷⁷. Con respecto a la cuantificación en los caracoles *Succinea* sp. se presentó en mayor cantidad que *Fossaria humilis*. *Fossaria* se localizaba en las partes húmedas en las orillas del agua, lo que concuerda con lo mencionado por Taylor⁷⁸ y *Succinea*, *Helix* y *Planorbella* se localizaron en las partes húmedas cerca del agua. *Planorbella* se obtuvo en mayor cantidad en los meses de marzo y abril de 1998 y en los siguientes meses se encontraron pocos caracoles. Los moluscos mas frecuentemente asociados con *Fossaria humilis* fueron *Succinea* sp. y

Planorbella (Pierosoma) trivolvis de julio a noviembre de 1997 (Figura 2) y *Fossaria humilis*, se encontró muy poco asociada con *Physa cubensis* y *Helix aspersa* (Cuadro 3) biotopos 1 y 5.

En cuanto a las medidas de los caracoles *Fossaria humilis*, estos se midieron como lo indica Burch²⁸. El autor comunica que las medidas que alcanza este género son menores a los 13 mm de altura cuando el caracol es un adulto de mediana edad. En este trabajo las medidas de los caracoles son muy parecidas a las mencionadas por Burch. McCraw³⁰ quién trabajó con *Fossaria humilis* obtenidos en la región de Ann Arbor, Michigan menciona que el tamaño promedio de los caracoles es de 10.2 mm de altura y 5.5 mm de diámetro. Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan muy cercanamente con McCraw ya que la media es de 10.5 mm de altura y 5.5 mm de diámetro.

Con respecto a *Succinea*, las conchas mas grandes fueron observadas en los meses de mayo de 1997. De 472 caracoles colectados estos tuvieron medidas de 13.44 mm de altura y 8.08 mm de diámetro. En abril de 1998 se midieron 141 caracoles con 13.04 mm de altura y 7.3 mm de diámetro. Estas medidas difieren de aquellas mencionados por Burch²⁸.

En México Paraense⁷⁰ en 1976, registra a *Planorbis trivolvis* (= *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* Say). Las medidas de los caracoles obtenidas en este trabajo, están dentro de los ámbitos mencionados por este autor. En marzo y abril de 1998 se observaron con las máximas alturas (adultos) y la mínima altura de la concha fue registrada entre mayo y septiembre de 1998.

En este estudio se encontró que la altura máxima de la especie *Planorbella trivolvis* alcanzó 13.3 mm; siendo de talla menor que los registrados por Contreras⁷¹ del río San Juan, Nuevo León con 18.24 mm de altura.

Con respecto a *Helix aspersa* su altura fue de 21.00 mm y de diámetro 18.8 mm, la altura máxima está, dentro del ámbito mencionado por Manga⁷⁷ y Burch²⁸.

Asimismo se encontró que *Physa cubensis* con altura de 20.1 mm y diámetro de 10.6 mm concuerda cercanamente con lo señalado por Paraense⁷².

En el biotopo 5 en los meses de abril y junio de 1997 se encontraron pocos caracoles, la temperatura del suelo fue de 23°C y 25°C, y la humedad relativa de 45% y poca vegetación; en el mes de octubre y noviembre se encontraron mayor cantidad de *Fossaria humilis* en los biotopos 4 y 5, la temperatura fue de 33°C y 33.5°C y la humedad relativa de 60% y 45%. En el mes de diciembre, en los 5 biotopos, no se encontraron caracoles, además la temperatura fue de 29°C y la humedad relativa baja (40.5%, temporada de sequía) y la vegetación fue escasa. Esta baja humedad y alta temperatura provocan deshidratación y desecación en el suelo y en los caracoles; como menciona Boray⁶² las condiciones ambientales repercuten en la sobrevivencia de los caracoles por lo que los caracoles probablemente se encontraban estivando.

Con referencia a la distribución de los moluscos en los 5 biotopos, en particular las especies *Succinea* sp. y *Helix aspersa*, caracol anfibio el primero y terrestre el segundo, no es normal la presencia de estos caracoles durante todo el año pues el

rancho está localizado en una región con estacionalidad marcada, de sequía y lluvia²⁶ por lo que se esperaría que los moluscos estuvieran e hibernaran en la época de sequía y bajas temperaturas⁵⁹. No obstante aparecen esporádicamente en la época de sequía y ocasionalmente en grandes números, situación que puede atribuirse al regadío que se lleva a cabo en el rancho precisamente en la época de sequía. Los biotopos 4 y 5 se monitorearon con particular interés, ya que en ellos se acumula el agua del proceso de irrigación y de las lluvias, es importante mencionar que el predio está en declive en su sección N-S y se hunde en el primer tercio de la porción Norte favoreciendo el estancamiento de agua en esos dos biotopos. Fue en ellos donde se localizó por temporadas mas prolongadas el mayor número de moluscos de *Fossaria humilis* y moluscos asociados.

Por tanto, las condiciones ambientales (precipitación pluvial) además del regadío juegan un papel preponderante en el aumento o disminución de los caracoles *Fossaria humilis* en este rancho y por consiguiente en la infección y transmisión de la fasciolosis en los huéspedes definitivos.

Con respecto a los moluscos no intermediarios (caracoles asociados con *Fossaria humilis*) de *F. hepatica*, es importante señalar que también intervienen en el ciclo biológico de otros trematodos. *Planorbella (Pierosoma) trivolvis* Say 1817 según Manga⁷⁷ transmite *Echinostoma revolutum* en aves (anátidos) y roedores, *Cotylurus* spp en aves piscívoras además *Clinostomum complanatum* parasita al pez (*Ciclasoma mojarra*) como 2º huésped intermediario, el cual es huésped definitivo en aves piscívoras (garzas). *Lissorchis mutable* parasita peces ciprinidos. *Physa*

cubensis transmite *Cotylurus* spp. Ramírez⁷⁹ registra el primer hallazgo de esporocisto de trematodo *Leucochloridium* sp, en el caracol anfibio, *Succinea peruviana*, de las "lomas" de la costa central del Perú, describiendo su saco maduro de colores verde y castaño, posiblemente el huésped definitivo sean las aves. Asimismo Manga⁷⁷ estudia la familia Helicidae (Gasteropoda, Pulmonata), mencionando que *Helix aspersa* transmite a *Brachylaima recurvum*.

Conclusión

En el rancho universitario de la UAH ubicado en Tulancingo, Hgo, se determinó a *Fossaria humilis* como huésped intermediario de *F. hepatica* y a *Succinea* sp., *Planorbella (Pierosoma) trivolvis*, *Physa cubensis* y *Helix aspersa* como moluscos no huéspedes intermediarios de *F. hepatica*.

Cuadro 1

MEDICION DE MOLUSCOS COLECTADOS CADA MES EN EL RANCHO (UAH) LOCALIZADO
EN EL MUNICIPIO DE TULANCINGO, HIDALGO.

Meses	No. de caracoles <i>Succinea</i> sp Altura y diámetro en mm	No. de caracoles <i>Physa cubensis</i> Altura y diámetro en mm	No. de caracoles <i>P. trivolvis</i> Altura y diámetro en mm	No. de caracoles <i>Helix aspersa</i> Altura y diámetro en mm	No. de caracoles <i>Fossaria humilis</i> Altura y diámetro en mm
Mar-97	*85(9.2-5.3**)	30(13.5-6.9)	2(12.0-6.6)		19(6.9-4.2)
Abr	319(9.2-5.8)				18(6.5-3.7)
May	472(13.4-8.0)				20(8.5-5.4)
Jun	600(11.1-6.0)	2(14.8-9.2)	2(12.3-9.3)	6(25-22.4)	2(5.9-3.2)
Jul	114(10.58-5.6)	1(7.9-5.0)	4(13.0-7)	2(11-9)	19(7.2-4.0)
Ago	220(10.8-6.7)	6(12.8-3.9)	5(10.7-5.5)		49(10.5-6)
Sep	789(9.4-6.26)	59(13.6-5.6)	20(11.8-9)	1(27-25)	252(5-3)
Oct	6(7.0-4.0)		3(13.3-7.27)	2(8.5-6.5)	192(7-4)
Nov	25(11.5-7.6)	15(13.3-7.2)	3(9.0-6.0)	2(27.5-24.5)	751(4.9-2.9)
Dic					
Ene-98	25(5.4-4.9)	39(11.2-7.2)	18(10.8-6.0)	6(23-18.7)	11(7.6-4.4)
Feb	5(7.1-4.9)	31(10.9-6.7)	40(11.1-8.8)	32(21-18.8)	8(8.0-4.5)
Marz			73(7.0-6.0)	13(15.5-13.6)	5(6.16-4.0)
Abr	141(13.4-7.3)	14(9.4-4.9)	116(9.2-7.8)		20(6.8-4.0)
May	5(11.7-7)	25(10.4-5.7)			4(8.3-4.3)
Jun		40(9.8-5.7)			
Jul	10(8.4-6.2)	1(20-10.6)	3(10.6-5.7)	4(12-10)	18(5.7-3.0)
Ago			10(9.9-5.4)	7(10.8-8.5)	4(6.0-4.0)
Sep		20(11.3-9)	41(9.5-7.9)	15(7.5-5.7)	119(10.5-5.0)
Total	2816	283	340	90	1511

*= Número total de ejemplares medidos por mes

**= Altura y diámetro promedio en mm

Cuadro 2

NÚMERO DE MOLUSCOS VIVOS Y CONCHAS CON ORGANISMOS MUERTOS COLECTADOS EN EL RANCHO UNIVERSITARIO (UAH)* EN EL MUNICIPIO DE TULANCINGO, HIDALGO

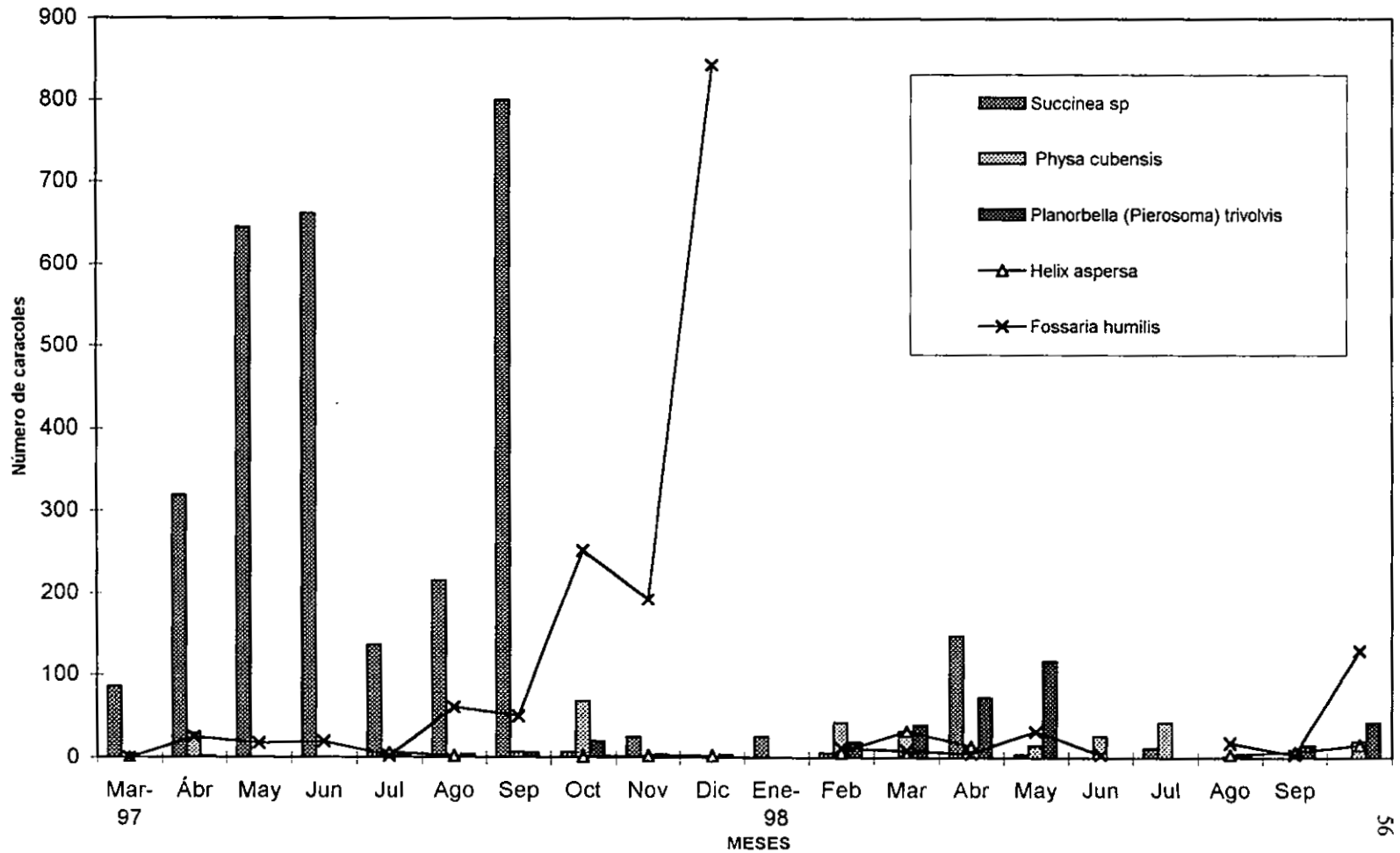
Nombre científico	<i>Succinea</i>	sp	<i>Physa</i>	<i>cupensis</i>	<i>Planorbella</i>	<i>irosoma) trivo</i>	<i>Helix</i>	<i>aspersa</i>	<i>Fossaria</i>	<i>humilis</i>
Meses	M	V	M	V	M	V	M	V	M	V
Mar-97	25	60	26	4		2			13	12
Abr	196	123							8	10
May	445	200							15	5
Jun	446	215			2		6		2	
Jul	35	100			4		2		43	18
Ago	125	90	4	2		5			28	22
Sep	480	320	55	13	20		1		50	202
Oct	4	2				3	2		7	185
Nov	22	3			3		2		375	468
Dic										
Ene-98	10	15	30	12	18		6		8	3
Feb	5		20	12	34	6	24	8	8	
Mar					73		13		4	1
Abr	68	78	12	2	114	2			19	12
May	4		17	8					3	1
Jun			30	12	2					
Jul	12		1		3		4			18
Ago					15		7		2	2
Sep			15	4	38	4	12	4	3	126
promedio	88	58	11	3.63	1.05	1.15	4.15	0.63	30.9	57.1
%	32.4	21.3	4	1.3	6.3	0.42	1.5	0.23	11.3	20.9
Total	1877	1206	210	69	326	22	79	12	588	1085

* = Universidad Autónoma de Hidalgo

M = muertos

V= vivos

Figura 1
Colecta mensual de caracoles por especie en el rancho universitario del municipio de Tulancingo, Hidalgo.



Cuadro 3

SITIO DE COLECCIÓN DE DIFERENTES ESPECIES DE CARACOLES Y PARAMETROS DEL SUELO
DEL RANCHO DE LA (UAH) TULANCINGO, HGO.

Mar-97	biotopo 1	biotopo 2	biotopo 3	biotopo 4	biotopo 5
Epoca de sequía					
No.de caracoles	45 <i>Succinea</i> 2 <i>Planorbella</i>	40 <i>Succinea</i> 30 <i>Physa</i>	2 <i>Planorbella</i>	4 <i>Fossaria</i>	21 <i>Fossaria</i>
temperatura	25.5°C(19°C-27°C)	25.5°C(19°C-27°C)	21°C(19°C-23°C)	21°C(19°C-23°C)	25.5°C(19°C-27°C)
humedad	38(30%-40%)	39(21%-35%)	25.5(23%-28%)	45(40%-50%)	45(30%-60%)
pH	10	9	9	7	7
Vegetación	poca	poca	poca	poca	abundante
Abril					
Epoca de sequía					
No. de caracoles	319 <i>Succinea</i>				18 <i>Fossaria</i>
temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
humedad	38.5(30%-46%)	37(29%-49%)	28(21%-35%)	45(40%-50%)	45(30%-60%)
pH	10	9	9	7.5	7
Vegetación	poca	poca	poca	poca	abundante
Mayo					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles	526 <i>Succinea</i>	119 <i>Succinea</i>			20 <i>Fossaria</i>
Temperatura	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)
Humedad	37(29%-45%)	36(28%-44%)	35.5(27%-44%)	35.5(27%-44%)	35.5(27%-44%)
pH	6	6	7	6	7
Vegetación	poca	poca	poca	poca	poca
Junio					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles				372 <i>Succinea</i> 6 <i>Helix</i> 2 <i>Planorbella</i>	289 <i>Succinea</i> 2 <i>Fossaria</i>
Temperatura	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)	25.5°C(23°C-28°C)
Humedad	42.5(37%-48)	42.5(37%-48)	43(37%-49%)	43(37%-49%)	43(37%-49%)
pH	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3
Vegetación	poca	poca	poca	poca	poca
Julio					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles				2 <i>Helix</i> 135 <i>Succinea</i> 4 <i>Planorbella</i>	61 <i>Fossaria</i>
Temperatura	39.5°C(28°C-51°C)	39.5°C(28°C-51°C)	35.5°C(31°C-40°C)	44.5°C(31°C-58°C)	44.5°C(31°C-58°C)
Humedad	30.5(22%-59%)	30.5(22%-56%)	33.5(18%-49%)	33.5(18%-49%)	33.5(18%-49%)
pH	4.5	4.5	5	5	5
Vegetación	poca	poca	poca	abundante	abundante

continúa cuadro 3

Agosto					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles	44 <i>Succinea</i>	28 <i>Succinea</i>	143 <i>Succinea</i>	2 <i>Planorbella</i> 6 <i>Physa</i>	3 <i>Planorbella</i> 50 <i>Fossaria</i>
Temperatura	32.5°C(29°C-36°C)	32.5°C(29°C-36°C)	32.5°C(29°C-36°C)	32.5°C(29°C-36°C)	32.5°C(29°C-36°C)
Humedad	48.5(40%-56%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)
pH	7	7	6	6	6
Vegetación	poca	poca	poca	poca	poca
Septiembre					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles	175 <i>Succinea</i>	117 <i>Succinea</i>	295 <i>Succinea</i>	200 <i>Succinea</i> 1 <i>Helix</i> 68 <i>Physa</i>	13 <i>Succinea</i> 20 <i>Planorbella</i> 252 <i>Fossaria</i>
Temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(20°C-27°C)	31°C(26°C-36°C)	32.5°C(29°C-36°C)	31°C(25°C-37°C)
Humedad	50.5(46%-55%)	58.5(50%-67%)	48(29%-67%)	54.5(42%-67%)	54.5(42%-67%)
pH	7	7	6	7	7
Vegetación	poca	poca	poca	poca	poca
Octubre					
Epoca de lluvias					
No de caracoles	6 <i>Succinea</i>		2 <i>Helix</i>	3 <i>Planorbella</i>	192 <i>Fossaria</i>
Temperatura	31°C(25°C-37°C)	33°C(27°C-39°C)	33.5°C(27°C-40°C)	33.5°C(27°C-40°C)	33.5°C(27°C-40°C)
Humedad	32.5(28%-45%)	32.5(28%-45%)	44(28%-60%)	60(40%-80%)	60(40%-80%)
pH	8.1	8.6	8.6	8.6	8.6
Vegetación	poca	poca	poca	poca	poca
Noviembre					
Epoca de lluvias					
No de caracoles	2 <i>Fossaria</i>	15 <i>Succinea</i>	10 <i>Succinea</i> 2 <i>Helix</i>	205 <i>Fossaria</i>	638 <i>Fossaria</i> 3 <i>Planorbella</i>
Temperatura	32.5°C(25°C-40°C)	32.5°C(25°C-40°C)	32.5°C(25°C-49°C)	33°C(26°C-40°C)	33°C(26°C-40°C)
Humedad	35(30%-40%)	35(30%-40%)	39.5(30%-49%)	45(30%-60%)	45(30%-60%)
pH	8	8.6	6	8	8
Vegetación	poca	poca	poca	abundante	abundante
Diciembre					
Epoca de sequía					
No. de caracoles					
Temperatura	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C-31°C)	29°C(20°C-31°C)
Humedad	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)	40.5(38%-43%)
pH	6	6	6	5	5
Vegetación	muy poca	muy poca	muy poca	muy poca	muy poca
Ene-98					
Epoca de sequía					
No. de caracoles			25 <i>Succinea</i> 6 <i>Helix</i> 18 <i>Planorbella</i>		11 <i>Fossaria</i> 42 <i>Physa</i>
temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
Humedad	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)	27.5(17%-38%)
pH	5	5	5	5	5
Vegetación	muerta	muerta	muerta	muerta	muerta

Febrero					
Epoca de sequía					
No. de caracoles				5 <i>Succinea</i> 32 <i>Physa</i> 40 <i>Planorbella</i> 32 <i>Helix</i>	8 <i>Fossaria</i>
temperatura	23.5°C(20°C-27°C)	24.5°C(21°C-28°C)	24.5°C(21°C-28°C)	24.5°C(21°C-28°C)	24.5°C(21°C-28°C)
Humedad	22(19%-25%)	22(19%-25%)	22(19%-25%)	22(19%-25%)	22(19%-25%)
pH	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
Vegetación	muerta	muerta	muerta	poca	poca
Marzo					
Epoca de sequía					
No. de caracoles				73 <i>Planorbella</i> 13 <i>Helix</i>	5 <i>Fossaria</i>
Temperatura	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)	28°C(19°C-37°C)
Humedad	21(17%-25%)	21(17%-25%)	21(17%-25%)	21(17%-25%)	21(17%-25%)
pH	6.5	6.5	6.5	6	6
Vegetación	muerta	muerta	muerta	muy poca	poca
Abril					
Epoca de sequía					
No de caracoles				31 <i>Fossaria</i> 146 <i>Succinea</i> 14 <i>Physa</i>	116 <i>Planorbella</i>
temperatura	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)	22°C(19°C-25°C)
Humedad	27(21%-33%)	27(21%-33%)	27(21%-33%)	27(21%-33%)	27(21%-33%)
pH	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
Vegetación	muerta	muerta	muerta	poca	poca
Mayo					
Epoca de sequía					
No de caracoles				4 <i>Fossaria</i> 25 <i>Physa</i> 4 <i>Succinea</i>	
Temperatura	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)	23°C(19°C-27°C)
Humedad	27.5(20%-35%)	27.5(20%-35%)	27.5(20%-35%)	27.5(20%-35%)	27.5(20%-35%)
pH	5	5	5	5	5
vegetación	muerta	muerta	muerta	poca	muerta
Junio					
Epoca de sequía					
No. de caracoles	2 <i>Planorbella</i>			42 <i>Physa</i>	
temperatura	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)	23.5°C(20°C-27°C)
Humedad	26(17%-35%)	26(17%-35%)	26(17%-35%)	26(17%-35%)	26(17%-35%)
pH	5	5	5	6	6
Vegetación	muerta	muerta	muerta	poca	muerta
Julio					
Epoca de sequía					
No. de caracoles	18 <i>Fossaria</i> 12 <i>Succinea</i> 1 <i>Physa</i> 3 <i>Planorbella</i> 4 <i>Helix</i>				
Temperatura	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)	24°C(19°C-29°C)
Humedad	29(23%.35%)	29(23%.35%)	29(23%.35%)	29(23%.35%)	29(23%.35%)
pH	6	6	6	6	6
Vegetación	muerta	muerta	muerta	muerta	muerta

continúa cuadro 3

Agosto					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles	15 <i>Planorbella</i> 7 <i>Helix</i> 4 <i>Fossaria</i>				
Temperatura	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)	23.5°C(21°C-26°C)
Humedad	28.5(20%-37%)	28.5(20%-37%)	28.5(20%-37%)	28.5(20%-37%)	28.5(20%-37%)
pH	7	6	7	7	7
Vegetación	muerta	muerta	muerta	muerta	muerta
Septiembre					
Epoca de lluvias					
No. de caracoles	129 <i>Fossaria</i> 19 <i>Physa</i> 42 <i>Planorbella</i> 16 <i>Helix</i>				
Temperatura	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)	29°C(23°C-35°C)
Humedad	55(40%-70%)	55(40%-70%)	55(40%-70%)	55(40%-70%)	55(40%-70%)
pH	7	7	7	7	7
Vegetación	abundante	abundante	abundante	abundante	abundante

Temperatura= el promedio (mínima y máxima)

Humedad relativa = el promedio (mínima y la máxima)

Figura 2
***Fossaria humilis*, *Planorbella (Pierosoma) trivolvis*, y *Succinea sp* colectados cada mes en el rancho de la UAH de Tulancingo, Hgo.**

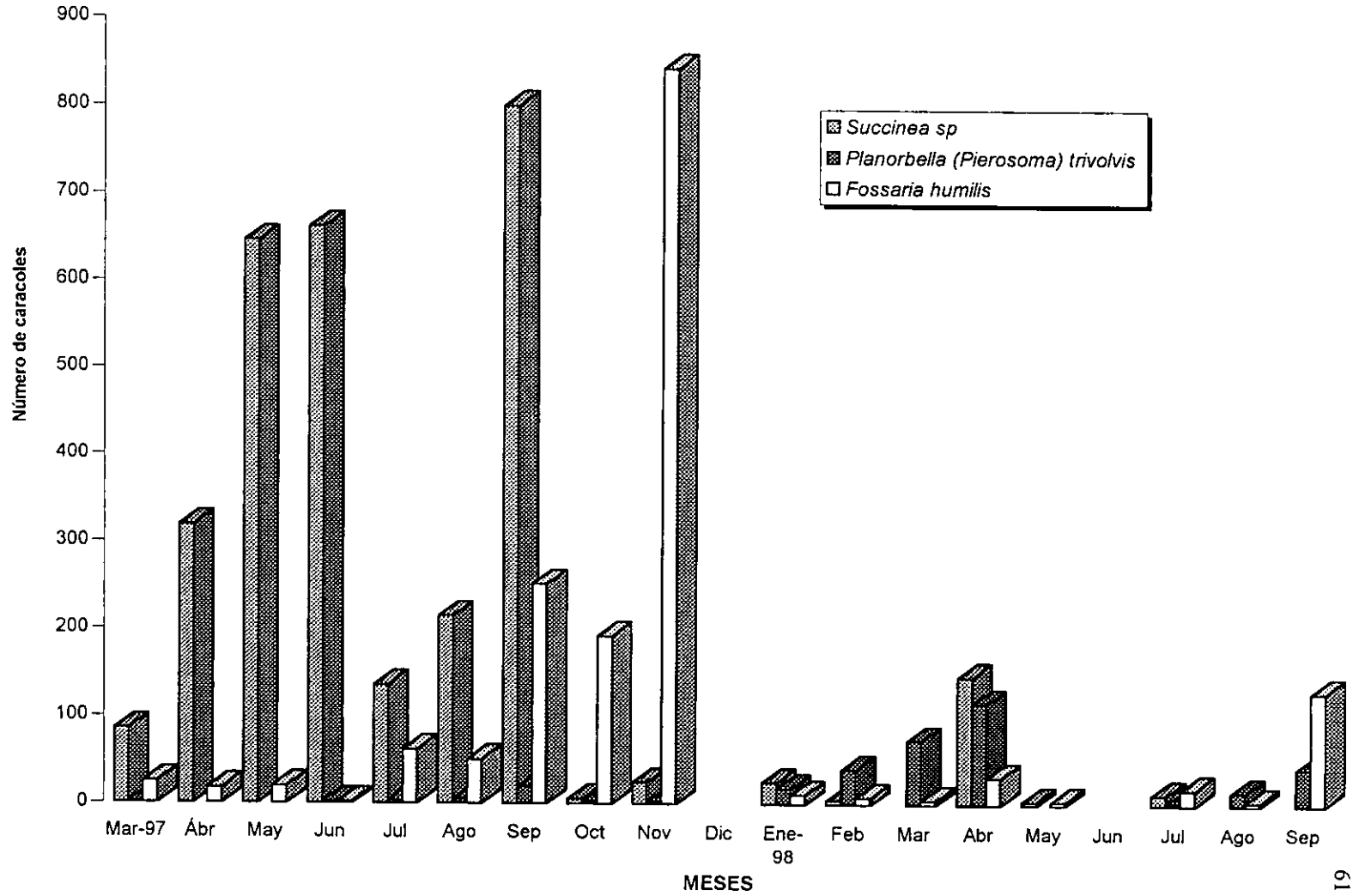
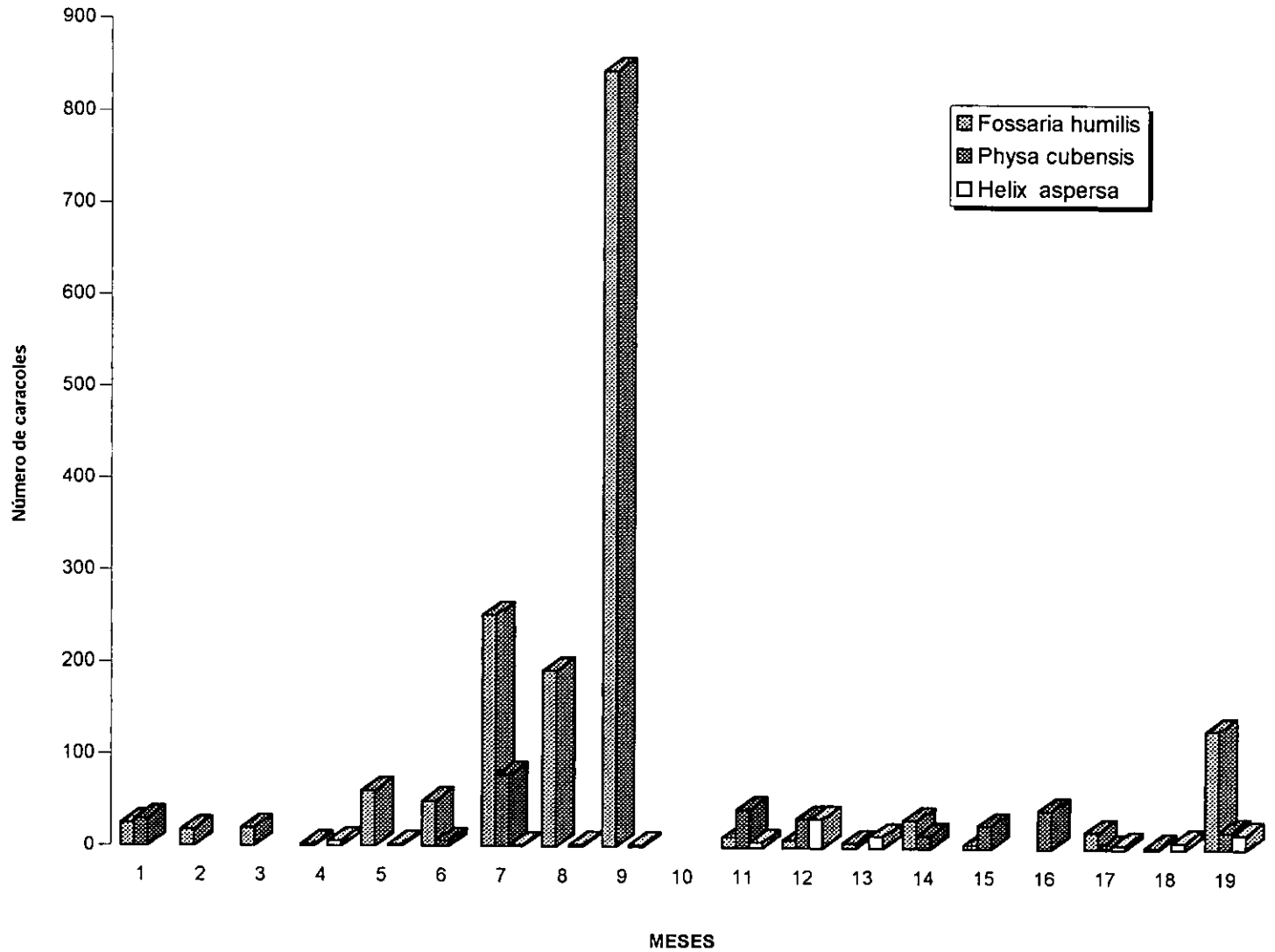


Figura 3
***Fossaria humilis*, *Physa cubensis* y *Helix aspersa* colectados cada mes en el rancho de la UAH de Tulancingo, Hgo.**



PROTOCOLO 3

EVALUACIÓN DE LA DINÁMICA POBLACIONAL DE CARACOLES HUÉSPEDES INTERMEDIARIOS DE *Fasciola hepatica* EN EL MUNICIPIO DE TULANCINGO, HGO.

Introducción

En México, se han realizado diferentes trabajos con respecto a la presencia de caracoles como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*; sin embargo, no se ha estudiado la dinámica poblacional de estos caracoles de campo y cultivados en el laboratorio de ahí la necesidad de realizar trabajos que en un futuro contribuyan a controlar al huésped intermediario de *F. hepatica* ya sea por medio de métodos físicos, biológicos o químicos.

Los caracoles del género *Fossaria* = *Lymnaea* son moluscos gasterópodos pulmonados de la familia Lymnaeidae, de hábitos dulceacuícolas con una distribución cosmopolita^{46,47,48} de las cuales se han identificado más de 45 especies^{52,51}, como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*. Castro²² menciona que en México se ha identificado 10 especies de caracoles *Lymnaea* de las cuales 8 han sido objeto de estudios, presentado las siguiente distribución: *Lymnaea humilis* es la especie más ampliamente distribuida encontrándose con el 50% de presentación, siguiendole *L. cubensis* 37.5% , *L. attenuata* y *L. palustris* con 28.15%, *L. columella* 16.62%, *L. obrussa* 12.5% *L. bulimoides* 6.25% y *L. truncatula* 3.2%. Vera³⁶ menciona la presencia de *L. cubensis*, *L. humilis* y *L. bulimoides* en Tulancingo, Hidalgo.

Clasificación taxonómica de los caracoles limnóidos

Mencionados por Burch^{28,59}, Hubendick²⁹ y Manga⁴⁷

Phylum:	Mollusca	Mollusca	Mollusca
Clase:	Gastropoda	Gastropoda	Gastropoda
Subclase:	Pulmonata	Pulmonata	Pulmonata
Orden:	Limnophila	Basommatophora	
Superorden			Basommatophora
Superfamilia	Lymnaeoidae		
Familia	Lymnaeidae	Lymnaeidae	Lymnaeidae
Subfamilia	Lymnaeinae		
Género:	<i>Fossaria</i>	<i>Lymnaea</i>	<i>Lymnaea</i>
Subgénero	Bakerilymnaea		

Distribución mundial

La distribución de caracoles involucrados en el ciclo de vida de *Fasciola hepatica* varía según las regiones. Sin embargo es de notarse que los caracoles principalmente de la familia Lymnaeidae, bajo condiciones óptimas de humedad y temperatura, actúan como huéspedes intermediarios del trematodo *Fasciola hepatica*.

A continuación se presenta una recopilación de las distintas especies de caracoles que han sido citados, como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*, mencionados por continentes.

Huéspedes intermediarios de *F. hepatica* a nivel mundial
 Huéspedes intermediarios en Europa

Autor	Lugar	Año	Género	Especie
Taylor ⁸⁰	Escocia	1922	<i>Lymnaea</i>	<i>peregra</i>
Bednarz ⁸¹	Polonia	1960	<i>Galba</i>	<i>truncatula</i>
Malek ⁵⁸	Europa	1962	<i>Fossaria</i>	<i>truncatula</i>
Ollerenshaw ⁸²	Wales	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Sampaio <i>et al</i> ⁸³	España y Portugal	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>peregra</i>
Sampaio <i>et al</i> ⁸³	España y Portugal	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>stagnalis</i>
Sampaio <i>et al</i> ⁸³	España y Portugal	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>glabra</i>
Sampaio <i>et al</i> ⁸³	España y Portugal	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>palustris</i>
Ollerenschaw ⁸⁴	Inglaterra	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Boch <i>et al</i> ⁸⁵	Alemania	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Manga ⁴¹	España	1991	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Rodelaud ^{86,87}	Francia	1995	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Bargues <i>et al</i> ⁸⁸	Europa	1997	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>stagnalis</i> <i>auricularia</i> <i>peregra</i> <i>palustris</i> <i>glabra</i> <i>truncatula</i>
Rodelaud ⁸⁹	Francia	1998	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Rodelaud ⁸⁹	Francia	1998	<i>Lymnaea</i>	<i>glabra</i>
Dreyfus <i>et al</i> ⁹⁰	Francia	1999	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Abrous <i>et al</i> ⁹¹	Francia	1999	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Augot <i>et al</i> ⁹²	Francia	1999	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>

Huéspedes intermediarios en Asia

Autor	Lugar	Año	Género	Especie
Shirai ⁹³	Japon	1925	<i>Lymnaea</i>	<i>pervis</i>
De Jesus ⁹⁴	Islas de Filipinas	1935	<i>Lymnaea</i>	<i>philipinensis</i>
Kawana ⁹⁵	China	1940	<i>Lymnaea</i>	<i>pervis</i>
Shrivastava ⁹⁶	India	1944	<i>Lymnaea</i>	<i>acuminata</i>
Shrivastava ⁹⁶	India	1944	<i>Lymnaea</i>	<i>luteola</i>
Shrivastava ⁹⁶	India	1944	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Petrochenco ⁹⁷	Japon	1954	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>

Itagaki ⁹⁸	Japon	1958	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Watanabe ⁹⁹	Asia	1955	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Malek ⁵⁸	Japon	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>pervis</i>
Malek ⁵⁸	Japon	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>japonicum</i>
Malek ⁵⁸	Islas Filipinas	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>philipinensis</i>
Malek ⁵⁸	Islas Filipinas	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>swinhoei</i>
Malek ⁵⁸	Asia Central Asia menor Asia del Este	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Malek ⁵⁸	Malaya	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>rubiginosa</i>
Taylor ⁶¹	Asia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Pantelouris ⁶⁵	Japon India	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>ammia</i>
Pantelouris ⁶⁵	Japon	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>pervis</i>
Pantelouris ⁶⁵	Asia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Pantelouris ⁶⁵	Japon	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>ollula</i>
Pantelouris ⁶⁵	Asia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Pantelouris ⁶⁵	Japon	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>ollula</i>
Watanabe ¹⁰⁰	Japon	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>ollula</i>
Rafyi <i>et al</i> ¹⁰¹	Iran	1971	<i>Lymnaea</i>	<i>gedrosiana</i>
Rafyi <i>et al</i> ¹⁰¹	Iran	1971	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Rafy <i>et al</i> ¹⁰¹	Iran	1971	<i>Lymnaea</i>	<i>palustris</i>
Hussain <i>et al</i> ¹⁰²	Pakistan	1996	<i>Lymnaea sp</i>	

Huéspedes intermediarios en Africa

Autor	Lugar	Año	Género	Especie
Coyle ¹⁰³	Congo Uganda	1956	<i>Lymanea</i>	<i>natalensis</i>
Malek ⁵⁸	Africa del Norte y Egipto.	1962	<i>Fossaria</i>	<i>truncatula</i>
Pantelouris ⁶⁵	Congo Uganda	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>natalensis</i>
Hammond ¹⁰⁴	Tanganika, Africa	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>natelensis</i>
Pantelouris ⁶⁵	Montañas de Kenia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>muervensis</i>
Taylor ⁶¹	Etiopía y Africa	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>muervensis</i>
Taylor ⁶¹	Etiopía y Sudáfrica	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Kendall ⁶⁰	Kenia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Van Eeden <i>et al</i> ¹⁰⁵	Sudáfrica	1966	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>

Huéspedes intermediarios en Oceanía

Autor	Lugar	Año	Género	Especie
Boray ¹⁰⁶	Australia y Nueva Zelanda	1961	<i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i>
Malek ⁵⁸	Australia	1962	<i>Lymnaea</i>	<i>tenustriatus</i>
Boray ¹⁰⁷	Australia	1964	<i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i>
Linch ¹⁰⁸	Australia	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i>
Taylor ⁶¹	Australia	1965	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>tasmanica</i> <i>brazieri</i> <i>subaquatilis</i>
Taylor ⁶¹	Australia Islas Malvinas	1965	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>laucestonensis</i> <i>diaphena</i>
Brudson ¹⁰⁹	Australia	1967	<i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i>
Boch <i>et al</i> ⁸⁵	Australia	1977	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Boray ¹¹⁰	Australia y Nueva Zelanda	1969	<i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i>
Pullan ¹¹¹	Nueva Zelanda	1969	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Climo <i>et al</i> ¹¹²	Islas Sur de Nueva Zelanda	1972	<i>Lymnaea</i>	<i>truncatula</i>
Climo <i>et al</i> ¹¹²	Nueva Zelanda	1972	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Ponder ⁵⁵	Australia	1975	<i>Lymnaea</i> (<i>Pseudosuccinea</i>)	<i>columella</i>
De Chaneet ¹¹³	Australia	1977	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Harris ⁵⁷	Nueva Zelanda	1980	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>

Huéspedes intermediarios en América

Autor	Lugar	Año	Género	Especie
Sinistsin ¹¹⁴	Texas USA	1929	<i>Galba</i>	<i>bulimoides techella</i>
Shaw y Simms ¹¹⁵	Oregon USA	1930	<i>Galba</i>	<i>bulimoides</i>
Shaw ¹¹⁶	Norteamérica	1931	(<i>F</i>)	<i>ferruginea</i>

			<i>Lymnaea</i>	
Krull ¹¹⁷	America Norte	1933	<i>Fossaria</i> <i>Pseuosuccinea</i>	<i>modicella</i> <i>columella</i>
Tagle ¹¹⁸	Chile	1940	<i>Lymnaea</i>	<i>viator</i>
Price ²³	USA	1953	<i>Fossaria</i>	<i>ferruginea</i>
Price ²³	USA	1953	<i>Fossaria</i>	<i>modicella</i>
Mazzotti ⁶	México	1956	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Malek ⁵⁸	USA.	1962	<i>Stignocola</i>	<i>bulimoides</i>
Malek ⁵⁸	USA.	1962	<i>Fossaria</i>	<i>modicella</i>
Pantelouris ⁶⁵	Canada	1965	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Pantelouris ⁶⁵	Norteamérica	1965	<i>Lymnaea</i> (<i>Fossaria</i>)	<i>bulimoides</i>
Brenes <i>et al.</i> ¹¹⁹	Costa Rica	1968	(<i>Pseudosuccinea</i>)	<i>columella</i>
Wilson y Samson ¹²⁰	Colorado, Norte de México y Arizona USA	1971	<i>Fossaria</i>	<i>modicella</i>
Lang ¹²¹	Washisgton USA.	1977	<i>Lymnaea</i>	<i>stagnalis</i> <i>wasatchensis</i>
Lang ¹²¹	Washisgton	1977	<i>Lymnaea</i>	<i>palustris</i> <i>nataliana</i>
Lang ¹²¹	Washington USA	1977	<i>Lymnaea</i>	<i>proxima</i> <i>proxima</i>
Gómez <i>et al.</i> ²¹	México	1978	<i>Lymnaea</i> (<i>Galba</i>) <i>cubense</i>	<i>cubense</i>
Malek ⁵⁶	Venezuela Colombia	1980	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Trejo <i>et al.</i> ⁵²	Puebla	1981	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i> <i>cubensis</i> <i>attenuata</i>
Landeros ³⁷	México	1981	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Landeros ³⁷	México	1981	<i>Lymnaea</i>	<i>bulimoides</i>
Whitney <i>et al.</i> ¹²²	Quebec Canada	1981	(<i>Pseudosuccinea</i>)	<i>columella</i>
Trejo ⁵²	México	1982	<i>Lymnaea</i>	<i>bulimoides</i>
Trejo <i>et al.</i> ⁵²	México	1982	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Trejo <i>et al.</i> ⁵²	Durango	1982	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Trejo ⁵²	México	1982	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i> <i>bulimoides</i> <i>cubensis</i>
Díaz <i>et al.</i> ¹²³	México	1982	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i> <i>bulimoides</i> <i>cubensis</i>
Najera ¹²⁴	Colorado, Norte	1982	<i>Stignocola</i>	<i>bulimoides</i>

Nájera ¹²⁴	de México Colombia Ecuador	Nuevo	1983	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>tomentosa</i> <i>coussini</i>
Cruz ¹²⁵	México		1983	<i>Lymnaea</i>	<i>attenuata</i>
Cruz <i>et al</i> ¹²⁶	México		1986	<i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i>
Trejo ^{52,54}	México		1982, 1983	<i>Lymnaea</i>	<i>obrussa</i>
Paraense ¹²⁷	Brazil		1986	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Trejo ⁵²	México		1982	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>palustris</i> <i>obrussa</i>
Santos ⁶⁶	Tlaxcala			<i>Fossaria</i> <i>Fossaria</i> (<i>Backerilymnaea</i>)	<i>humilis</i> <i>cubensis</i>
Vera ³⁶	Tulancingo Hidalgo		1985	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i> <i>cubensis</i> <i>bilimoides</i>
Endeje ³¹	México		1986	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
De Puga <i>et al</i> ³⁸	Cuba		1988	<i>Fossaria</i> <i>Pseudosuccinea</i>	<i>cubensis</i> <i>columella</i>
Torres ⁶⁴	México		1991	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>humilis</i> <i>columella</i>
Yong y Perera ^{67,68}	Cuba		1991	<i>Fossaria</i>	<i>cubensis</i>
Pérez <i>et al</i> ¹²⁸	Cuba		1991	<i>Physa</i>	<i>cubensis</i>
Mattos ¹²⁹	Brazil		1997	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Bargues ¹³⁰	Bolivia		1997	<i>Lymnaea</i> <i>Lymnaea</i>	<i>cubensis</i> <i>truncatula</i>
Claxton <i>et al</i> ¹³¹	Perú		1998	<i>Lymnaea</i>	<i>viatrix</i>
Abilio <i>et al</i> ¹³²	Bolivia		1998	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Pile <i>et al</i> ¹³³	Brazil		1998	<i>Lymnaea</i>	<i>columella</i>
Manso ³²	Cuba		1999	<i>Lymnaea</i>	<i>cubensis</i>

Cultivo de caracoles huéspedes intermediarios de F. hepatica en el laboratorio.

Los estudios acerca de cultivos que se han realizado para reproducir el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* son los siguientes:

Con respecto a *Fossaria* = (*Lymnaea*) se han realizado estudios biológicos y ecológicos en condiciones naturales, que han permitido evaluar diferentes métodos de control biológico de estos moluscos⁵⁴. Sin embargo, para realizar investigaciones sobre *Fasciola hepatica*, se requieren disponer frecuentemente de ejemplares (huéspedes intermediarios) cultivados en el laboratorio, para observar el ciclo biológico de éstos y a su vez cultivar estadios evolutivos (metacercarias); que puedan servir para el posterior desarrollo de métodos de diagnóstico, tratamiento y control de la fasciolosis.

En México existe escasa información sobre el cultivo de huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* con fines experimentales.

Torres⁶⁴ realizó un estudio con *L. humilis* y *L. columella* probando diversas dietas que fueron: alga *Oscillatoria* sp. (alga de su hábitat natural), *Oscillatoria* sp. con medios de cultivo, un combinado compuesto alimento concentrado para conejo, mezcla de vitaminas y una combinación de éstos. Las dietas que resultaron mas eficaces fueron: el alga *Oscillatoria* sp, el medio de cultivo y el combinado. Los caracoles de *L. columella* mostraron mayor fertilidad y alcanzaron los valores más altos de crecimiento y supervivencia.

Vera ³⁶ realizó un estudio donde evaluó diferentes dietas para el cultivo de *Lymnaea bulimoides*, *L. cubensis* y *L. humilis*, comparando la eficiencia en el crecimiento de los caracoles empleando alga *Oscillatoria* sp., *Lactuca sativa*, alimento comercial para peces y una combinación de éstos.

Sus resultados señalan que las mejores dietas fueron el alga *Oscillatoria* sp. y el combinado, siendo este la dieta mas adecuada para *L. bulimoides*.

Endeje *et al* ³¹. logró en el laboratorio buenos resultados con respecto al nutrimento y el crecimiento de caracoles *L. columella* utilizando alga *Oscillatoria*.

Con referencia a investigaciones sobre cultivo de caracoles en otros países se tiene que en Michigan; en Estados Unidos de América, Yun-san Liang y Van der Schalie¹³⁴ en 1975, realizaron el cultivo del caracol *Fossaria bulimoides*, en cajas de Petri empleando lodo con alga *Oscillatoria* sp. obteniendo resultados aceptables.

En Cuba, Sánchez *et al.*¹³⁵ diseñaron un método de propagación masiva de *Fossaria cubensis* a base de un cultivo de algas cianóficias de los géneros *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Phormidium* y *Schimidleinema*, en placas de Petri de 12 cm de diámetro utilizando un sustrato fangoso y altos niveles de nitrato y carbonato de calcio. Con este medio el crecimiento y reproducción de *Fossaria cubensis* fueron los mejores.

Justificación

En México, se han realizado diferentes trabajos con respecto a presencia de caracoles como huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*; sin embargo, no se ha estudiado la dinámica poblacional de éstos caracoles de campo y cultivados en el

laboratorio, para recabar algunos datos sobre el comportamiento de la población y del crecimiento de los caracoles. Datos que pueden ser de utilidad en el control de la fasciolosis en el ganado.

Objetivo

En el presente trabajo fue determinar la dinámica poblacional de los caracoles huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica*, colectados en el rancho universitario de Tulancingo, Hidalgo y obtenidos en el laboratorio.

Hipótesis

- 1.- Hay relación entre el número de caracoles obtenidos en el campo con la temperatura y la humedad .
- 2.- Hay relación entre el tamaño de los caracoles obtenidos en el campo y la época del año.

Material y Métodos

El manejo de caracoles de campo, se describió en el protocolo 1

El manejo de caracoles en el laboratorio

En el laboratorio de Parasitología y en el Instituto de Biología cada mes, se identificaron los caracoles pulmonados huéspedes intermediarios de *F. hepatica*.

Para ello se realizaron las siguientes actividades:

- a) Identificación de moluscos (huéspedes o no de *Fasciola hepatica*) se determinó el género y especie, tomando en cuenta los criterios seguidos por Burch^{28,59} y Malek⁵⁶.
- b) Cada caracol (huésped intermediario de *F. hepatica*) se observó para determinar su etapa de desarrollo (juvenil o adulto), asimismo se realizaron mediciones de la concha (cuadro 3 del primer protocolo).

Con respecto a las etapas juveniles de moluscos, que fueron colectados en el campo, se procesaron de acuerdo el método descrito por Rolfe y Nichols¹³⁶ en donde mencionan:

- a) En charolas de porcelana de (25 cm X 50), el lodo colectado se removió con agua y en seguida se colocó una pasta de lodo con un grosor de 2 cm de profundidad, una vez esparcido el lodo, se dejaron por 10 días.
- b) Posteriormente se colectaron los caracoles en la periferia de la muestra de la charola con lodo.
- c) El lodo se pasó por un tamiz de 8 cm de diámetro con malla de 5 mm de grosor para obtener los caracoles que se hubiesen quedado ahí, y este proceso se realizó con el lodo cada mes para observar la cantidad de caracoles adultos colectados durante un año y medio. Además se obtuvieron los caracoles adultos para la producción de masas ovígeras en donde se inició el cultivo correspondiente.

Cultivo de masas ovígeras

Esta actividad, fue realizada utilizando el método descrito por Torres⁶⁴ que se describe brevemente.

Utilizando una caja de Petri de plástico se colocó una capa de lodo, tomado en el campo, con grosor de 5 mm dejando secar un poco para inmediatamente añadir una capa de aproximadamente el mismo grosor de alga *Oscillatoria sp.* también colectada en el campo, previamente molida con agua, el cultivo se dejó secar unos minutos, se tapó y se trasladó a un cuarto especialmente acondicionado con iluminación constante y una temperatura de 20-25°C para que de ésta manera se estimulara el crecimiento del alga en la capa de lodo durante aproximadamente 48 horas. Después de este periodo de tiempo, los medios de cultivo estuvieron listos para utilizarse. La humedad se mantuvo agregando agua de la llave aereada.

Las masas ovíferas se mantuvieron en cajas de Petri hasta obtener las crías aproximadamente 15 días después.

El mantenimiento de los caracoles se realizó utilizando los métodos descritos por Torres⁶⁴ y por Endeje³¹ con algunas modificaciones en cada caso.

Para ello se tomaron 2Kg de lodo y un litro de alga. El lodo se tamizó, se le agregó 14.7gr de carbonato de calcio (2 barras de gis molidas). Seguidamente se utilizaron cajas de Petri de 14 cm de diámetro, a las cuales se les colocó una capa de lodo fino con aproximadamente 6 mm de grosor. Una vez que el lodo estaba casi seco se añadió a cada caja una cepa de alga *Oscillatoria sp.* molida con agua.

El cultivo se dejó secar durante unos minutos, se tapó y se llevó a un lugar con iluminación constante, manteniéndose a una temperatura de 25°C para que de esta manera se estimulara el crecimiento del alga sobre el lodo.

Después de 48 horas, a los cultivos se les agregó una pizca espolvoreada de alimento comercial para peces (Tetramin®). Los caracoles recién nacidos en el laboratorio, se pasaron a cajas de cultivo con el alimento preparado y de ésta manera se obtuvieron varias generaciones en el laboratorio (2 años).

Análisis de los resultados.

1. Dinámica poblacional de moluscos.- Desde la llegada de los caracoles traídos del campo al laboratorio se cuantificaron los moluscos, se obtuvieron los porcentajes y promedios del número de caracoles vivos y muertos.
2. Factores ambientales de los biotopos .- Con respecto a los factores ambientales temperatura, humedad y pH del suelo se tienen los datos como la temperatura mínima y máxima y la humedad en cada uno de los biotopos y durante los 19 meses muestreados y de ellos se hizo un promedio excepto para el pH. Asimismo se examinó si existía relación entre el número de caracoles, con la temperatura, la humedad y el pH. También se vio la relación del tamaño de los caracoles y la oviposición con respecto a la época del año para determinar la madurez sexual, utilizando el método estadístico de Análisis de Varianza Multivariado ¹³⁷.
3. Comportamiento de la población de caracoles.- Este carácter fue medido a través de la estratificación de edades en los caracoles obtenidos en el laboratorio.

Se obtuvieron datos del análisis bromatológico del lodo y alga *Oscillatoria* sp. y del alimento comercial para peces, comparándolo a su vez con un estudio similar realizado por Vera ³⁶.

Resultados

Caracoles de campo dinámica poblacional.- Entre marzo de 1997 a septiembre de 1998, se colectaron un total de 1673 (32.2%) moluscos en el rancho de la UAH. En los 5 biotopos estudiados se identificó a *Fossaria humilis* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*.

Las mayores poblaciones aparecieron en los meses de julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre del 1997 en los biotopos 5, 4 y 1 (Cuadro 2 mencionado en el protocolo 1). Presentando poca vegetación en los meses de julio y agosto y con abundante vegetación en los meses de septiembre, octubre y noviembre. En las zonas húmedas y en su alrededor se presentaban microalgas verdes en abundancia.

En el mes de noviembre se obtuvieron mayor cantidad de caracoles vivos 468 *Fossaria humilis* y 375 muertos. En el mes de septiembre de 1998, se obtuvieron mayores poblaciones de *Fossaria humilis* en el biotopo 1 (Cuadro 2 mencionado en el protocolo 2).

Mediciones de los caracoles .- De 1673 caracoles colectados se midieron 1511 ejemplares de *F. humilis* (el resto no fue posible medirlos por que la concha estaba rota). Por medio del método de Lambda de Wilks se calculó el valor de 11.105

encontrándose una relación de la oviposición con el tamaño de los caracoles durante las 4 estaciones del año determinando una diferencia significativa con la altura y diámetro de los caracoles ($P= 3.59 \cdot 10^{-12}$). En el mes de marzo de 1997 se midieron 19 caracoles obteniéndose un promedio de 6.9 mm de altura y 4.2 mm de diámetro, en noviembre se realizó otra medición de moluscos, obteniéndose un promedio de altura 4.99 mm y de diámetro de 2.9 mm. Los mayores tamaños se obtuvieron en los meses de mayo y agosto con alturas de 8.5 mm y 10.5 mm y, de diámetro de 5.4 mm y 5.6 mm respectivamente. En 1998 el menor tamaño se encontró en el mes de julio con altura de 5.7 mm y de diámetro 3 mm (Cuadro 3 mencionado en el protocolo 1). En noviembre del mismo año, se colectaron 843 caracoles de los cuales 468 estaban vivos (Cuadro 2 del protocolo 2). La cantidad de caracoles fue muy variable en los dos años. No se encontraron caracoles en los meses de diciembre de 1997 y en junio de 1998.

En cuanto a los factores ambientales determinados, y su relación con el número de caracoles de *Fossaria humilis*, no se encontró relación estadísticamente significativa ($P>0.05$). En 1997, la temperatura varió de 23°C a 44.5°C, la humedad de 45% a 60% y el pH de 4.5 a 10 en los biotopos 1, 2, 3, 4 y 5 (según el biotopo medido). En 1998 la temperatura varió de 23°C a 29°C, la humedad se mantuvo entre 21% y 55% y el pH de 5 a 7 en los biotopos (según el biotopo medido) donde se localizó a *Fossaria humilis* (Cuadro 1 mencionado en el protocolo 1).

Caracoles mantenidos en el laboratorio

Dinámica poblacional .- Durante el período de estudio se cuantificó el número de moluscos de acuerdo a sus diferentes edades. El estudio se inició con 12 caracoles reproductores, y posteriormente se estratificaron por rango de edades, considerando de 1-14 días como juveniles tempranos, 15 a 25 días como juveniles y 26 a 32 días adultos, cuando los caracoles empezaron a ovipositar.

Tres veces se inició el cultivo de caracoles. El primero se inició con caracoles obtenidos de la colecta del mes de marzo de 1997. De ese cultivo el mayor número de recién nacidos se obtuvo en junio de ese año, llegando a la juventud y al estado adulto el mayor número de caracoles que en los otros cultivos. Los caracoles se mantuvieron hasta la 14^a generación (Cuadro1). Los caracoles alcanzaron una altura de 6.5 mm y diámetro de 3 mm, vivieron entre 45 a más de 60 días. El 2do cultivo iniciado con caracoles de la colecta del mes de noviembre de 1997, generó mayor números de recién nacidos. Sin embargo, se obtuvo un menor número de jóvenes y adultos. El cultivo decayó hasta la 9^a generación. El promedio de altura y diámetro de la concha fueron 6.5 mm y 3 mm. La sobrevivencia fue de 45 días (Cuadro 2). El 3er cultivo iniciado en el mes de enero de 1998, con caracoles colectados el 31 de diciembre de 1997, generó mayor número de recién nacidos y jóvenes y menor cantidad de adultos. La altura promedio fue de 6 mm y 3 mm el diámetro. El cultivo alcanzó la 10^a generación con una sobrevivencia de 32 a 42 días (Cuadro 3).

En el cuadro 4 se presenta el resultado del análisis bromatológico en base seca del alga *Oscillatoria* sp. y el alimento comercial para peces, comparándolo con el análisis bromatológico realizado por Vera³⁶.

El resultado del análisis bromatológico del lodo fue como sigue: materia orgánica 15.14%, Calcio 0.88%, Fósforo 0.16% y Magnesio 0.045%.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Discusión

Vera³⁶ y Escudero *et al*¹³⁸ mencionan que encontraron en el municipio de Tulancingo, Hgo a *L. humilis*, *L. cubensis* y *L. bulimoides* sin embargo, en el presente estudio solo se encontró a *Fossaria humilis* (= *Lymnaea humilis*) como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*. Castro²² señala a *Fossaria humilis* con una distribución del 50% de presentación en México, y no se encontraron las 2 últimas especies mencionadas por Vera³⁶.

Con respecto a la dinámica poblacional de caracoles del campo.- Fossaria humilis en el presente estudio, se empezó a registrar en los meses de julio y agosto de 1997; Se encontraron en mayor cantidad en el mes de noviembre 843 (15.2%); y en diciembre no se encontraron caracoles (época de estivación). En el siguiente año, se obtuvo menor número de caracoles; y en el mes de junio se volvió a registrar otra época de estivación. Se puede considerar que la mayor cantidad de caracoles se presentó en las estaciones del verano y otoño; a finales del invierno estuvieron en estivación, y luego aparecieron en la primavera (Cuadro 2 y Figura 1 mencionado en el protocolo 1).

Con referencia a la altura de la concha de *Fossaria humilis*, los mayores tamaños se observaron en 1997 particularmente en mayo y agosto. Al mismo tiempo, en estos

meses los caracoles ovipositaron un número pequeño de masas ovígeras. Mientras que en septiembre y en noviembre el tamaño de la concha fue menor; sin embargo, el número de masas ovígeras fue mayor; no obstante, en febrero, mayo y septiembre de 1998 se encontraron los caracoles de mayor talla. Los caracoles jóvenes obtenidos en el mes de noviembre de 1997 tuvieron una altura de 4.9 mm y un diámetro 2.9 mm (Cuadro 3 en el protocolo 1).

Es importante notar que durante diciembre de 1997 hasta julio del 1998 se observó una prolongada sequía en el valle de Tulancingo, la temperatura promedio mensual osciló entre 23°C y 33.5°C; sin embargo en los meses de julio y noviembre se registraron temperaturas máximas de 39.5°C- 44.5°C y de 33°C en los biotopos 1, 4 y 5 respectivamente (Cuadro 1 del protocolo 1).

Rangel² menciona que las altas temperaturas ocasionan una disminución en la humedad provocando la deshidratación de caracoles y desecación en el suelo, evitando de esta manera el desarrollo de algas verdes las cuales son el alimento de estos caracoles. En este estudio y de manera similar, la sequía ocasionó una disminución en la humedad como se observa en el cuadro 1, con humedad relativa muy baja (21% a 50%) y esto posiblemente influyó en un menor porcentaje de caracoles.

Con respecto al pH del suelo, este varió de 4.5 a 10 (\bar{X} 6.4) durante los 19 meses cuadro 1. La media \bar{X} =6.4 es ligeramente menor con lo mencionado por Escudero¹³⁸ para *L. bulimoides*, *L. cubensis* y *L. humilis* de Tulancingo, Hgo México, en donde el pH promedio obtenido fue de 6.8.

Dinámica poblacional de caracoles criados en el laboratorio.- El mayor número de caracoles nacidos en el laboratorio (caracoles recién nacidos y jóvenes) fueron observados en el mes de junio de 1998. Dichos caracoles se produjeron y llegaron hasta la 14^a generación (Cuadro 1). Con una temperatura ambiente que varió de 19°C a 31°C (en promedio 25°C) y una humedad de 35% a 75% (promedio 55%). Los caracoles vivieron más de 55 días.

En lo referente al alimento de los caracoles se observó que el porcentaje de proteína cruda en el alimento comercial para peces empleado para este trabajo resultó ser más alto (47.07%) que el empleado por Vera³⁶ (41.03%). A pesar de que no se tiene información sobre los requerimientos nutrimentales de los caracoles limneidos, Shimada¹³⁹ describe las limitantes que o puede haber en el análisis bromatológico, mencionando que en él se sobrevaloran algunos nutrimentos y otros se minimizan, sobre todo en los requerimientos nutrimentales de los moluscos los cuales son de microgramos.

La comparación de los resultados de energía metabolizable en los análisis de alga y del alimento comercial estos fueron más altos en este estudio que los analizados por Vera³⁶.

Con respecto al estudio del lodo se determinó que posee Materia orgánica en 15.14%, Calcio en 0.88%, Fósforo en 0.16% y Magnesio en 0.045%. Como lo menciona Vera³⁶ su utilidad es de suma importancia en la formación de la concha de los moluscos.

La proteína cruda (PC) determinada para el alga *Oscillatoria* sp. en este estudio (5.05%) fue similar a lo encontrado por Vera³⁶ 5.45%.

Conclusiones y recomendaciones

Los caracoles colectados en el campo se encontraron en mayor cantidad en los biotopos 1,4 y 5, en los meses de julio a noviembre de 1997, en el siguiente año disminuyó su población y solo en el mes de septiembre aumentó. *Fossaria humilis* cultivados en el laboratorio y alimentados con alga *Oscillatoria* sp. mezclada con alimento para peces se mantuvieron hasta la 14^a generación a través de dos años. Estudios de otros autores no mencionan el número de generaciones obtenidas en México, por lo que esta experiencia puede servir de base para cualquier tipo de estudio con este caracol limnéido, particularmente en cultivos masivos para asegurar el suministro de metacercarias para el desarrollo de estudios quimioterapéuticos e inmunológicos sobre fasciolosis.

Cuadro 1

**CULTIVO DE CARACOLES *Fossaria humilis* MANTENIDOS EN EL LABORATORIO
CON UNA DIETA COMPUESTA DE ALGA *Oscillatoria* spp Y ALIMENTO COMERCIAL
PARA PECES**

Meses	RP	MO	RN	J	A	GE
Mar-97	12	79				
Abr			607	485	151	1 ^a
May	45	71				
Jun			808	432	206	2 ^a
Jul	24	298	646			
Ago				411	291	3 ^a
Sept	24*	465	680			
Oct				515	125	
Nov	22	79	428	330	215	4 ^a
Dic	5					
Ene-98		96	255	188	142	5 ^a
Feb	94	255				
Mar			1130	678	11	6 ^a
Abr	11	65	35	18	12	7 ^a
May	12	487	788	128	119	
Jun	18	232	1881	879	171	
Jul	55	345	800	99	22	8 ^a
Ago	22	186	850	75	55	
Sept	12	289	1100	235	48	9 ^a
Oct	12	65	700	12		
Nov	12	26	350	105	17	10 ^a
Dic	17	22	125	35	15	11 ^a
Ene-99	15	139	78	23	21	12 ^a
Feb	12	162	650	115	18	13 ^a
Mar	18	345	950	479	55	14 ^a
Totales	418	3706	12861	5230	1694	
Promedio	16.7	154.4	535.8	217.9	67.79	

* Caracoles reproductores que continuaron ovipositando de septiembre a diciembre de 1997

RP= Reproductores (hermafroditas)

MO= Masas ovigeras

RN = Recién nacidos

J = Juveniles

A= Adultos

GE = Generaciones

Cuadro 2

CULTIVO DE *Fossaria humilis* COLECTADOS EL MES DE NOVIEMBRE DE 1997 MANTENIDOS EN EL LABORATORIO CON UNA DIETA COMPUESTA DE ALGA *Oscillatoria* spp Y ALIMENTO COMERCIAL PARA PECES.

Meses	RP	MO	RN	J	A	GE
Nov-97	6	22	119	55	42	1a
Dic	42	48	115	75	34	2a
Ene-98	34	79	100	87	62	
Feb	28	125	187	103	42	
Mar	24	10	40	12	12	3a
Abr	12	29	129	78	71	
May	10	15	126	115	99	4a
Jun	35	282	800	415	235	
Jul	24	129	600	126	67	5a
Ago	12	72	350	75	51	
Sept	21	134	500	266	22	6a
Oct	21	179	2500	250	18	
Nov	18	25	100	60	6	7a
Dic	6	32	150	17	8	8a
Ene-99	5	55	115	25	Mortandad	9a
Totales	298	1236	5931	1759	769	
Promedio	19.86	82.4	494.75	146.58	64	

RP= reproductores (son hermafroditas)

MO= Masas ovigeras

RN= Recién nacidos

J= Juveniles

A= Adultos

GE= Generaciones

Cuadro 3

CULTIVO DE *Fossaria humilis* COLECTADOS EL MES DE DICIEMBRE DE 1997 MANTENIDOS EN EL LABORATORIO CON UNA DIETA COMPUESTA DE ALGA *Oscillatoria* spp Y ALIMENTO COMERCIAL PARA PECES

Meses	RP	MO	RN	J	A	GE
Ene-98	6	18	52	17	12	1a
Feb	12	50	75	51	12	
Mar	8	12	42	55	22	2a
Abr	12	22	98	55	48	
May	48	32	500	325	35	3a
Jun	35	480	1500	470	249	
Jul	33	128	208	125	89	4a
Ago	14	105	425	170	55	
Sept	48	225	935	215	33	5a
Oct	33	107	500	108	48	
Nov	13	78	200	138	18	6a
Dic	17	40	180	75	64	7a
Ene-99	15	120	590	185	19	8a
Feb	19	452	900	310	63	9a
Mar	48	478	6205	2299	767	
Abr			1200	690	125	10a
Totales	361	2347	13610	5288	1659	
Promedio	22.56	146.68	850.6	330.5	103.68	

Rp= Reproductores (son hermafroditas)

MO= Masas ovigeras

RN= Recién nacidos

J= Juveniles

A= Adultos

GE= generaciones

Cuadro 4

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE UNA DIETA PARA CULTIVAR CARACOLES *Fossaria humilis*
Y SU COMPARACIÓN CON OTRO ESTUDIO SIMILAR (LOS DATOS SE DAN EN PORCENTAJE)

Cruz Mendoza Irene*	Alga		Alimento / peces	
	%	%	%	%
Materia seca	100	100	26.5	93.4
Humedad	0	0	0	0
% Proteína Cruda (N 6.25)	5.05	47.72	5.4	41.3
Estrato Etéreo	0.97	5.4	0.3	4
Cenizas	91.37	17.63	0	0
Fibra cruda	2.39	0.19	8.8	4.6
Estrato Libre de Nitrógeno	0.23	29.07	7.6	42
Total Nitrógeno Digestible	7.15	68.6	15.89	79.17
Energía Digestible Kcal/Kg	315.1	3025.1	69.91	348.34
Energía Metabolizable Kcal/Kg	258.35	2480.32	57.44	286.19

*Análisis realizados en el Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.

** Análisis realizado en el Departamento de Nutrición del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH

PROTOCOLO 4

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE INFECCIÓN DE CARACOLES CON DIFERENTES ESTADOS EVOLUTIVOS DE *Fasciola hepatica* INFECTADOS EN FORMA NATURAL Y EN EL LABORATORIO DURANTE CUATRO ESTACIONES DEL AÑO EN EL RANCHO UNIVERSITARIO.

Introducción

Para que el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* se lleve a cabo y que exista la fasciolosis, se requiere de un huésped intermediario, el caracol perteneciente a la familia Lymnaeidae. La fase de desarrollo del parásito que inicia esta relación es el miracidio, posteriormente dentro del caracol se forman los esporoquistes, redias y cercarias.

Se han mencionado varios patrones de comportamiento de los miracidios; el más importante es su búsqueda del huésped intermediario. El miracidio, es atraído por estímulos químicos, provenientes de los moluscos en condiciones naturales. No se ha comprobado que los estímulos emitidos por una especie de caracol sean específicos en relación con un miracidio de una especie de trematodo determinado, además, ese estímulo se ve influido por diversos factores ambientales¹²⁶. Los tropismos que posee y la atracción química ejercida por el caracol permiten que el miracidio penetre a través de las partes blandas del molusco^{60,125}. Kendall⁶⁰ menciona que se da una reacción quimiotáctica positiva

Por *L. truncatula* al miracidio a una distancia de 15 cm, los miracidios que penetran a través del pie del caracol degeneran en un día, mientras que los que entran por los tejidos blandos si tienen un desarrollo posterior¹²⁵. Es necesaria una gran cantidad de caracoles para que los miracidios localicen al caracol¹⁴⁰, la entrada inicial es por la acción succionaria de la papila anterior del miracidio ayudándose para su adhesión con el "mucus" que secreta el caracol. Posteriormente es perforado el integumento del caracol y hay separación de las células epiteliales del manto⁶⁰, ya dentro del caracol, el miracidio pierde su cubierta ciliada y su forma elongada para convertirse en esporocisto^{65,140,141}.

Según Roberts¹⁴² las superficies del pie y del manto del caracol son probablemente los sitios predilectos para el desarrollo de los esporocistos. Kendall⁶⁰ señala que los esporocistos jóvenes tienen la habilidad para desarrollarse en una variedad de sitios dentro o fuera de los órganos del huésped. El esporocisto se desarrolla cerca del sitio de penetración a partir de cada miracidio, forma redias (usualmente en el borde del manto) en aproximadamente dos o tres semanas, el riñón y el área esofágica. Las redias se mueven activamente y migran hacia el área distal del caracol, pueden localizarse en la glándula digestiva o hígado del caracol a partir del día 14 posinfección. Aproximadamente por el día 20 en el interior del cuerpo de la redia se produce el siguiente estadio, la cercaria. Bajo condiciones medio ambientales la redia puede producir dentro de sí misma una segunda generación de redias (redias hijas)^{56,65}. Se ha sugerido que la formación de una segunda generación de redias está determinada por las condiciones

externas, puesto que las redias se forman en tiempos fríos y las cercarias en tiempos cálidos⁵⁶. Kendal⁶⁰ menciona que a temperaturas frías las redias preceden directamente a la formación de cercarias, y en el caso de una segunda generación de redias, ambos tipos de fases pueden ser encontradas en una misma redia. Malek⁵⁶ menciona que la cercaria producida en la primera o segunda generación de redias, abandona la redia en cualquier momento y después al caracol a través de la cavidad pulmonar, también en cualquier momento, pero comúnmente en las últimas horas de la tarde o en la noche. El periodo de incubación del parásito en el caracol varía de acuerdo con varios autores ^{56,142} en *Lymnaea truncatula* infectado con *Fasciola hepatica* a 25°C. se encontró un esporocisto en el tercer día, redias en el séptimo día y las cercarias fueron liberados a los 38 días después de la infección.

Boray ¹⁰⁶ en Australia ha hecho observaciones acerca del desarrollo completo de *Fasciola hepatica* en *Lymnaea tomentosa* y sobre la duración del mismo a diferentes temperaturas. Así se señala que con temperatura de 15°C a 35°C, tarda de 56 a 86 días; de 15°C tarda de 24 a 28 días y que 35°C es una temperatura muy alta para un caracol como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*. Experimentalmente se ha demostrado que en *L. tomentosa*¹¹⁰ y *L. truncatula* infectados con *Fasciola hepatica* abajo de los 10°C no ocurren un desarrollo apreciable de los estadios larvarios, sobreviviendo éstos hasta por 100 días sin causar daño aparente al caracol.

Sanchez¹⁴³ menciona que *L. humilis*, *L. bulimoides* y *L. cubensis* a las dos semanas de edad es cuando se infectan menos, independientemente del método de infección utilizado. *L. humilis* resultó ser la especie más susceptible a la infección, con mayor número de caracoles liberadores y mayor número de metacercarias liberadas, sin embargo, al infectar estas mismas especies a las 2, 4 y 6 semanas de edad no se han encontrado diferencias en el porcentaje de viabilidad de las metacercarias obtenidas. Se ha demostrado que el ámbito de temperatura apropiado para la emergencia es de 10 a 26°C⁶⁰; la producción de metacercarias en *L. truncatula* no puede realizarse a temperaturas superiores a 28°C¹⁰⁶. Además, se ha demostrado que *L. tomentosa* es más adaptable a las altas temperaturas. Sin embargo, Boray¹⁰⁷ menciona que las altas temperaturas durante el desarrollo pueden afectar o modificar la viabilidad de las metacercarias.

La luz no es un factor tan importante, ya que la emergencia sucede en el día o en la noche. Se ha demostrado experimentalmente que el principal factor que determina la emergencia de las cercarias es la inmersión de los caracoles en agua limpia, la cual debe ser cambiada frecuentemente y, además, que el recipiente que contenga el agua sea grande ya que un espacio restringido inhibe la emergencia

Mauri y Mittepak¹⁴⁴ realizaron una investigación en la que comunicaron que las fases larvarias de *Fasciola hepatica* en *Lymnaea cubensis* se encuentran todo el año.

Justificación

Se sabe que existen laboratorios donde se producen metacercarias en gran escala para hacer infecciones experimentales y evaluar compuestos quimioterapéuticos. Sin embargo, no se han realizado estudios para correlacionar la infectividad de metacercarias obtenidas de caracoles de campo y las metacercarias producidas en el laboratorio, para conocer cuáles son las más infectivas.

Objetivo

Determinar el grado de infección de caracoles con diferentes estados larvarios de *Fasciola hepatica* inoculados en forma natural y en el laboratorio.

Hipótesis

1- Los caracoles de *Fossaria humilis* de campo contienen mayor número de fases larvarias de *Fasciola hepatica* que los caracoles infectados en el laboratorio.

De acuerdo con el Comité Tutorial pidió realizar el siguiente trabajo, el objetivo fue:

Determinar a que soluciones de pH (5, 5.7, 6.5, ...10) y agua aereada, sería

mejor para infectar a los caracoles con miracidios de *F. hepatica* obtenidos de bovinos.

Material y Métodos

Una vez colectados los caracoles mencionados en el protocolo 1 y 2, se seguirán los siguientes pasos:

Manejo de caracoles de campo y su adaptación en el laboratorio.

Cultivo de caracoles.

Se cultivó los caracoles siguiendo el método descrito por Endeje ³¹

a) Se utilizaron cajas de Petri de plástico en las cuales se colocó una capa de lodo de 5 mm de grosor; traída del campo dejándolo secar un poco para luego añadir una capa de aproximadamente el mismo grosor de alga *Oscillatoria* sp. Molida con agua también colectada en el campo.

b) El cultivo se dejó secar unos minutos, se tapó y se trasladó a un cuarto especialmente acondicionado con iluminación constante y una temperatura de 20-25°C para de esta manera estimular el crecimiento del alga en la capa lodosa durante aproximadamente 48 horas. Después de este periodo de tiempo, los medios de cultivo estuvieron disponibles para utilizarse, manteniendo la humedad agregándoles solo agua aereada.

c) Los caracoles que se colectaron en el campo se colocaron en los cultivos de alga, cada tercer día se cambió el cultivo hasta que alcanzaron la madurez en la que se inició el período de oviposición.

d) Las masas ovígeras se colectaron de las cajas de Petri con cultivo y se colocaron por separado en cajas de Petri de cristal, agregándoles agua aereada de ésta manera se colocaron a la temperatura más o menos constante hasta su eclosión lo cual sucedió aproximadamente a los 25 días. Los caracoles juveniles con un tamaño aproximado de 3 mm de altura y edad entre 22-25 días fueron infectados con miracidios.

Obtención de miracidios de *F. hepatica*.

Los miracidios se obtuvieron a partir de huevos de *Fasciola hepatica* colectados de vesículas biliares de bovinos sacrificados en el rastro. Estos se incubaron durante 12 días a 27°C. Los huevos ya incubados, fueron se refrigeraron a 4°C hasta su utilización. Cuando los caracoles cultivados alcanzaron tres semanas de edad, los huevecillos de *Fasciola hepatica* se expusieron a la luz con focos de 100 watts para estimular la eclosión de los miracidios.

Inoculación de caracoles.

Se colocaron por separado de 100 a 200 caracoles de *F. humilis* en varias ocasiones para inocularlos con miracidios de *Fasciola hepatica* de bovinos.

Se utilizaron cristalizadores con aproximadamente 1000 ml de agua destilada.

Después de cada cristalizador se le añadió con la ayuda de una pipeta Pasteur, pequeñas alícuotas del agua que contenía miracidios. Bajo el microscopio estereoscópico, se realizó el conteo del número aproximado de miracidios que se obtuvieron en la alícuota, de tal manera, que finalmente para cada cristalizador se obtuvo un promedio de 3 a 4 miracidios por caracol. Los caracoles estuvieron expuestos a la infección de miracidios durante 4 horas. Una vez que transcurrió el tiempo de infección, los moluscos fueron regresados a sus respectivos medios de cultivo, cambiándolos cada tercer día y se mantuvieron así hasta que se liberaran las cercarias.

Obtención de metacercarias de caracoles de campo y del laboratorio

Los caracoles de gran tamaño obtenidos en el campo se pusieron mensualmente a liberar cercarias, de acuerdo al método señalado por Endeje³¹. Estos se colocaron individualmente en bolsas de plástico conteniendo 80 ml de agua aereada. Los moluscos fueron sometidos a cambios bruscos de temperatura, se colocaron en el refrigerador de 5 a 10 minutos y, posteriormente

se colocaron bajo un foco de 100 watts a un metro de distancia durante 24 horas. Cada bolsa fue marcada para reconocer los caracoles que estaban liberando cercarias de *F. hepatica*.

Los moluscos fueron expuestos, a estas condiciones una vez por semana y durante 4 ocasiones.

Las metacercarias obtenidas en las 4 exposiciones se dejaron 48 horas a temperatura ambiente y se realizó el conteo de ellas sobre una caja de Petri cuadrículada y se guardaron usando tubos de ensaye en el mismo plástico donde se enquistaron. Se añadió agua de la llave hasta el tope de su capacidad y se sellaron. Los tubos se refrigeraron a 4°C para su posterior utilización.

Obtención de fases larvianas de *Fasciola hepatica* de caracoles por el método de la bolsa de nylon.

A los caracoles obtenidos en campo y los del laboratorio se les aplicó el método de la bolsa de nylon de Manso *et al*³².

Sobre un pedazo de nylon de 10cm² se colocó 1 caracol, en una placa de Petri donde se agregaron 3 ml de agua. Seguidamente el molusco se comprimió con una pinza de disección y se observó en el microscopio el movimiento y morfología de las fases evolutivas de *Fasciola hepatica*, y se registraron los datos obtenidos.

Observación de caracoles.

Los caracoles mantenidos en cultivos con alga *Oscillatoria* fueron monitoreados en lo siguiente:

Mortalidad, número de cercarias liberadas, compresión en bolsa de nylon de los caracoles muertos para determinar posible fases evolutivas del parásito, número de esporoquistes, de redias, y de cercarias.

Infección de caracoles en diferentes soluciones de pH con miracidios de origen bovino.

Preparación de amortiguadores

Se prepararon amortiguadores, utilizando el método descrito por Linch¹⁴⁵

Amortiguador Fosfato con Límites de pH de 5.7 a 8.0

Solución concentrada de Fosfato sódico monobásico

($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$) 27.6 gr, en 1 litro de agua destilada (Solución A).

Solución concentrada Fosfato sódico dibásico

(Na_2HPO_4) se disuelve 28.39 gr en 1 litro de agua destilada (Solución B).

Se mezclan los volúmenes de soluciones concentradas que se mencionan y se afora a 200 ml para obtener los valores correspondientes de pH.

Por ejemplo:

ml Solución A	ml de solución B	pH final
93.5	6.5	5.7

Solución de amortiguador de carbonato-bicarbonato de sodio con límite de pH, 9 a 10, se realizó lo siguiente:

Solución concentrada A. Se disuelve 21.2 g de carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3) en agua destilada y se afora a un litro (solución 0.2M).

Solución concentrada B. Se disuelve 16.8 g de bicarbonato de sodio puro (NaHCO_3) en agua destilada y se afora a un litro (solución 0.2M).

Se mezclan los volúmenes de soluciones A y B y se afora a 200 ml. Para obtener los valores correspondientes de pH. Por ejemplo:

ml solución A	ml en solución B	pH final
5	45	9.0
13	37	9.5
27.5	22.5	10.0

El agua aereada tiene un pH de 7.2.

Una vez obtenidas las diferentes soluciones del pH se utilizaron 3-5 ml de cada solución para la inoculación de caracoles.

Se depositaron 10 caracoles en cada solución de pH correspondiente, dejando un grupo testigo sin infección con miracidios. Para ello se utilizaron placas de ELISA con fondo plano en las cuales se depositaron 3 ml de solución por pozo, 3 miracidios y un caracol. La exposición se hizo durante 4 horas; al término de los cuales los caracoles se colocaron en sus cajas de cultivos respectivos, para su posterior cuantificación.

Análisis de los resultados

Se cuantificaron los caracoles de los cultivos, obteniendo los promedios y porcentajes correspondientes. Se separaron a los caracoles por edades en los diferentes cultivos (mortalidad y sobrevivencia). Los datos sobre infección natural de moluscos intermediarios de *F. hepatica* (agosto y noviembre) fueron analizados mediante el cálculo de promedios mensuales, y para estimar la proporción de caracoles infectados durante un año y medio, se utilizó un intervalo de confianza al 95%³⁴.

Para determinar el pH óptimo y del agua aereada, para infectar a los caracoles con miracidios de *Fasciola hepatica*, se realizó un análisis de regresión logística³⁵ con la finalidad de determinar la mortalidad de los caracoles con cuatro variables: tiempo (medido en días), infección, pH y agua aereada.

Resultados

Porcentaje de infección de los moluscos intermediarios de *Fasciola hepatica* obtenidos en el campo. - Con respecto a la liberación de cercarias de *F. hepatica* por *Fossaria humilis* obtenidos en el campo, en agosto de 1997, 12 caracoles se indujeron a expulsar cercarias; de los cuales 6 (50%) estaban infectados con diversos estadios evolutivos del parásito.

El porcentaje de obtención de cercarias de *F. hepatica* durante un año y medio varió entre 1.1% y 2.4% (Cuadro 5 del primer protocolo). En agosto de 1997 a 17 caracoles se les aplicó el método de la bolsa de Manso encontrando 5 positivos, lo cual representa el 29% de infección de caracoles con redias.

En noviembre de 1997 a 325 moluscos se le aplicó el mismo método de la bolsa de Manso obteniendo 19 positivos, 7 (2.1%) caracoles con esporoquistes y 12 (3.69%) con redias (Cuadro 4 del primer protocolo).

El porcentaje de obtención de esporoquistes y redias de *F. hepatica* durante un año y medio fluctuó entre 2% y 5%.

Porcentaje de infección con miracidios de *F. hepatica* en moluscos obtenidos en el laboratorio.- Se inocularon 118 moluscos en el laboratorio en diciembre de 1997; 10 liberaron cercarias en la 2^o exposición realizada el 3 de febrero de 1998; 3 caracoles liberaron cercarias en la tercera exposición del 10 de febrero de 1998, obteniendo un promedio de 8.4% de infección (3.4% y 13.4%) en los caracoles (inoculados en el laboratorio); tales números representaron los más altos valores obtenidos en este estudio (Cuadro 1). El menor porcentaje de infección se presentó en 164 moluscos inoculados en febrero del 98, de ellos 5 caracoles (3%) estaban infectados (Cuadro 1).

A 200 caracoles muertos (julio del 98) se le aplicó el método de la bolsa de nylon, 30 (15%) caracoles resultaron positivos con esporoquistes y 35 (17.50%) caracoles con redias (Cuadro 2).

En septiembre de 1998, 200 caracoles fueron inoculados con miracidios, 48 de ellos (24%) presentaron redias (Cuadro 2).

De la inoculación de caracoles a diferentes pH y agua aereada, se obtuvieron los siguiente resultados :

Debido a que no se puede suponer linealidad con la acidez, se introdujo esta variable al cuadrado. El resultado del modelo global arrojó un valor de ji cuadrada de 1050.247 con 5 grados de libertad que da una significancia de 7.94E-225.

Es decir, se encontró evidencia estadísticamente significativa de que la mortalidad de los caracoles está influenciada por el tiempo, la infección, el pH y, el agua aereada ($p=7.94E-225$). El tiempo fue el factor más importante, debido a que al transcurrir el tiempo, la probabilidad de mortalidad de los caracoles aumentó.

Asimismo la infección por *Fasciola hepatica* de los caracoles, también aumentó en la probabilidad de mortalidad.

El agua areada con pH de 7.2, redujo la probabilidad de mortalidad, tal y como se observa en el cuadro No.3. Nueve caracoles de diez originalmente permanecieron vivos hasta el día 8 después de la inoculación; 8 caracoles vivieron hasta el día 19; mientras que del grupo testigo vivieron 5 (50%). Los caracoles infectados de este grupo vivieron hasta el día 33, a estos se les aplicó el método de la bolsa de nylon encontrándose fases evolutivas de *F. hepatica*. En el grupo testigo sobrevivió 5 caracoles hasta los 38 días.

El pH tiene un efecto cuadrático. En teoría la menor mortalidad se lograría con un pH de 8.03 en promedio ($1.5694/2*0.0977$). Sin embargo, por las observaciones en el laboratorio, éste valor de pH afecta a los caracoles aumentando su mortalidad.

En el laboratorio se observó:

Solución a pH de 5 - con este pH la mortalidad en los caracoles fue del 100% mientras que del testigo vivieron los 10 caracoles.

Solución a pH de 5.7.- Se observó una mortalidad del 70% el primer día de infección y del testigo vivieron los 10 caracoles.

Solución a pH de 6.0.- 2 caracoles seguían vivos a los 15 días postinfección mientras que del grupo testigo 5 caracoles sobrevivían.

Solución a pH de 6.5.- A los 6 días postinfección sobrevivían 3 caracoles; y el día 12 vivían 2 caracoles. En el grupo testigo 6 caracoles vivían hasta ese día.

Solución a pH de 7.- A los 6 días postinfección, solo vivían 3 caracoles y, a los 9 días posinfección vivían 2 caracoles y, a los 12 días solo un caracol vivió. Del grupo testigo la supervivencia hasta ese día era del 60%.

Solución a pH de 7.5. Se infectaron 8 caracoles, los cuales sobrevivían hasta el día 9 y, 5 caracoles vivieron hasta el día 12. El grupo testigo de este grupo, presentaba una supervivencia del 40% el día 15 (Figura 1 y 2).

Solución a pH de 8.0.- A los 12 días posinfección, solo sobrevivía un caracol.

Mientras que del grupo testigo se observó el 60% de supervivencia hasta ese día.

Solución a pH de 8.5.- Se infectaron 10 caracoles, vivieron 7 hasta el día 6. Para el día 12, solo sobrevivían 4 de ellos. El grupo testigo mantuvo una supervivencia del 60% hasta el día 12 (Cuadro 3).

Solución a pH de 9.- El primer día se infectaron 4 caracoles, de los cuales sobrevivió un caracol hasta el día 9. Del grupo testigo sobrevivieron 4 caracoles.

Solución a pH de 9.5.- El primer día se infectaron 7 caracoles, sobrevivieron 3 caracoles hasta el día 12. Del grupo testigo sobrevivieron 6 caracoles.

Solución a pH 10.- El primer día se infectaron 6 caracoles, sobrevivió un caracol hasta el día 12. Del grupo testigo sobrevivieron 6 caracoles hasta ese día (Figura 3 y 4).

Discusión

Con respecto al porcentaje de infección de caracoles liberadores de cercarias de *F. hepatica* obtenidos en el campo, se encontró un bajo porcentaje (1.1%-2.4%). Sin embargo, con respecto al hallazgo de fases evolutivas en los caracoles del campo se encontró una prevalencia mayor (2% -5%), esto difiere con lo reportado por Manga et al⁴¹ en la Provincia de León, España quien determinó en 2 años, entre 11 y 41% de prevalencia de infección por *F. hepatica* en *Lymnaea truncatula* del campo (5486 examinados), de febrero a marzo se encontraron los caracoles con diferentes fases evolutivas, mostraron la mayor infección en los

caracoles entre septiembre y diciembre cuando se encontró a redias y cercarias. Rangel² en 1995 al trabajar en ranchos de los municipios de Jalapa, Tlacotalpa y Teapa, en el estado de Tabasco, México observó caracoles *Fossaria viatrix* infectados con *F. hepatica* con prevalencia de 0.29 a 1.51%, datos que son más bajos que los obtenidos en este trabajo.

Con respecto a la infección por *Fasciola hepatica* en los caracoles obtenidos en el laboratorio se observó mayor porcentaje de infección, que el obtenido de caracoles colectados en el campo.

Kendall¹⁴⁶ en 1963, menciona que es en los caracoles juveniles donde se desarrollan las redias y en donde alcanzan a madurar cuando tienen suficiente alimento.

Si no hay alimento (alga *Oscillatoria*) y el suplemento suficiente, lo más probable es que no llegarán a liberar cercarias, además, menciona que el número de cercarias que maduran está relacionado a la cantidad del alimento para que las redias se desarrollen a través de los tejidos del caracol. El autor señala que entre mas desarrollado está el molusco, existe mucho más probabilidad de desarrollo de un gran número de parásitos.

En el presente trabajo se observó que debido a la falta de suministro de alga *Oscillatoria*, se obtuvo un bajo número de cercarias en los caracoles lo que coincide con lo mencionado por Kendall¹⁴⁶.

Boray¹⁴⁷ menciona que los cultivos de caracoles adaptados a las condiciones de laboratorio, producen más metacercarias que los caracoles colectados en el campo, o que provienen de la 1ª progenie y se espera del 30 al 40% de mortalidad normal de los caracoles. En este trabajo se obtuvo más del 50% de mortalidad de los caracoles, probablemente por que los cultivos utilizados no reunían las condiciones óptimas. Como suficiente suministro de alga *Oscillatoria* en los tiempos de sequía, otro de los factores fue probablemente la temperatura que debe ser constante y, la suficiente humedad para el cultivo y sobrevivencia de los caracoles como señala el autor.

Endeje³¹ describe en su trabajo con *Lymnaea columella* que encontró un ámbito de 1 a 174 metacercarias en los caracoles inoculados con 3 miracidios. En este trabajo, con *Fossaria humilis* se encontró en promedio 191 metacercarias en los caracoles de laboratorio inoculados con 3 miracidios.

Kendall, citado por Pantelouris⁶⁵ al inocular al caracol *L. columella* de manera individual con un miracidio, obtuvo de 12 a 625 cercarias por caracol, difiriendo este trabajo con ese estudio.

Con respecto al porcentaje de caracoles infectados obtenidos en el campo este fue bajo. Esto, sin duda va en relación a la influencia de los diversos factores ambientales que operan sobre el desarrollo y la mortalidad de los moluscos. Por ejemplo, la temperatura del suelo osciló entre 22°C y 44.5°C. Es importante notar que durante diciembre de 1997 hasta julio de 1998 se observó una prolongada

sequía en el valle de Tulancingo; además se registró una temperatura de 44.5°C en el mes de julio.

Rangel⁶⁹ menciona que en Tabasco, las altas temperaturas ocasionan una disminución en la humedad provocando desecación en el suelo, evitando de esta manera el desarrollo de algas verdes y la deshidratación de los caracoles. En este trabajo no fue posible lograr producir un alto grado de infección de caracoles, la cantidad de liberación de cercarias fue baja debido a que posiblemente no hubo alimento suficiente para los caracoles. Sin embargo, el ciclo evolutivo de *F. hepatica* pudo completarse por tal razón se demuestra que la fasciolosis de los rumiantes de esta región siempre estará presente, con una alta prevalencia en el ganado del rancho Universitario. Se sabe por estudios previos que la fasciolosis es altamente endémica en Tulancingo, Hidalgo, y así seguirá mientras no se implementen medidas adecuadas que conduzcan a un control integral de esta parasitosis.

Con respecto a la inoculación de caracoles a diferentes pH se observó: que en teoría, la menor mortalidad sería a un pH promedio de 8.03($1.5694/2*0.0977$); sin embargo, en los resultados obtenidos se vió que la mejor solución correspondió al agua aereada a pH de 7.2; 6 caracoles sobrevivieron hasta el día 15, encontrándose de 1-4 redias en 4 caracoles y del grupo testigo sobrevivieron 5 caracoles hasta ese día (Figura 2). Con pH de 7.5

5 caracoles inoculados sobrevivieron hasta el día 12, encontrándose 1 – 2 redias en 3 caracoles y del grupo testigo sobrevivieron 7 caracoles (Figura 1). Este trabajo corrobora a lo encontrado por Cruz¹²⁶ quien sostiene que los valores de pH óptimo para la infección por *F. hepatica* es de 7-9, valores de 5 y 10 son letales para los caracoles.

Conclusión

El porcentaje de caracoles de campo infectados con cercarias de *F. hepatica* durante un año y medio varió entre 1.1% y 2.4%. En agosto de 1997 se encontró el 50% de los caracoles infectados con cercarias y en noviembre el 47 % de caracoles también estaban infectados con cercarias; además se obtuvieron 7 (2.1%) caracoles con esporoquistes y 12 (3.69%) con redias. El porcentaje de esporoquistes y redias de *F. hepatica* en los caracoles, durante un año y medio, fluctuó entre 2% y 5%.

El mayor porcentaje de infección fue de 10 (8.4%) caracoles de 118 moluscos que se inocularon en el laboratorio con miracidios de *F. hepatica*. El menor porcentaje fue de 3% obtenido de 164 moluscos inoculados con miracidios de *F. hepatica*.

Cuadro 1

INFECCIÓN DE *Fossaria humilis* OBTENIDOS EN EL LABORATORIO INFECTADOS CON 3-5 MIRACIDIOS DE ORIGEN BOVINO

Fecha de inoculación	No de caracoles	Edad y Medición	Fecha de liberaciones				Porcentajes, Promedio de infección de caracoles	Método del intervalo de confianza 95%
			I	II	III	IV		
9/12/97	118	22 días 3-4 mm	26/01/98 No. de caracoles y No. de metacercarias	3/02/98 No. de caracoles y No. de metacercarias	10/02/98 No. de caracoles y No. de metacercarias	16/02/98 No. de caracoles y No. de metacercarias		
TOTAL			18 caracoles Negativo	3(9) 2(7) 1(49) 4(11) 10 caracoles infectados con 134 metacercarias.	1(98) 1(191) 1(8) 3 caracoles infectados con 297 metacercarias	1 caracol Negativo	X 8.4%	3.4%-13.4%
17/12/97	101	20 días 3-4 mm	18/01/98	25/01/98	2/11/98	9/11/98		
TOTAL			7 caracoles Negativo	3(9) 2(4) 5 caracoles infectados con 35 metacercarias	1(88) 2(6) 3 caracoles infectados con 100 metacercarias	3 caracoles Negativo	X 4.9%	2.6%-13%
2/04/98	200	17 a 25 días 3-5 mm	19/05/98	26/05/98	4/05/98	12/06/98		
TOTAL			1(65) 2(8) 1(16) 2(4) 6 caracoles infectados con un total de 105 metacercarias	1(17) 1(28) 2 caracoles con 45 metacercarias	2 caracoles Negativo	1 caracol Negativo	X 3%	1.2%- 6.7%
26/02/98	164	22 días 3-5mm	6/04/98	13/04/98	21/04/98	28/04/98		
TOTAL			1(12) 1(15) 3(8) 5 caracoles con un total de 51 metacercarias	1(13) 1(7) 2 caracoles con un total de 20 metacercarias.	1 caracol Negativo	1 caracol Negativo	X 3%	1%-7%

Cuadro 2

Fossaria humilis DE LA 7a y 8a GENERACION DE 20-22 DÍAS DE EDAD Y UNA ALTURA DE 3 MM
INFECTADOS CON 3-5 MIRACIDIOS DE ORIGEN BOVINO A LOS QUE SE APLICÓ EL MÉTODO
DE LA BOLSA DE NYLON

Fecha	Número de caracoles a la infección con miracidios	Días/ Número de caracoles muertos	Número de caracoles infectados esporoquiste	Número de caracoles infectados reñas	% de caracoles infectados esporoquiste	% de caracoles infectados reñas	% de caracoles infectados
3/07/98	200	(2 a) 30 b (5) 22 (9) 10 (17) 16	(8*) 3** (22) 2	(6*) 3*** (11) 1 (5) 5 (1) 4 (4) 5 (7) 2 (1) 2			
Total		totales 78 caracoles	30 caracoles infectados con 68 esporoq.	35 caracoles con 85 reñas	15%	17.50%	33%
11/09/98	200	(5 a) 51b (6) 27 (8) 1 (9) 4 (13) 4 (15) 2 (20) 1		(35) 2 (1) 3 (1) 2 (7) 1 (1) 3 (1) 1 (1) 3 (1) 2			
Total		totales fueron 90 caracoles infectados		48 caracoles infectados con 91 reñas		24%	24%

* = Número de caracoles dentro del paréntesis

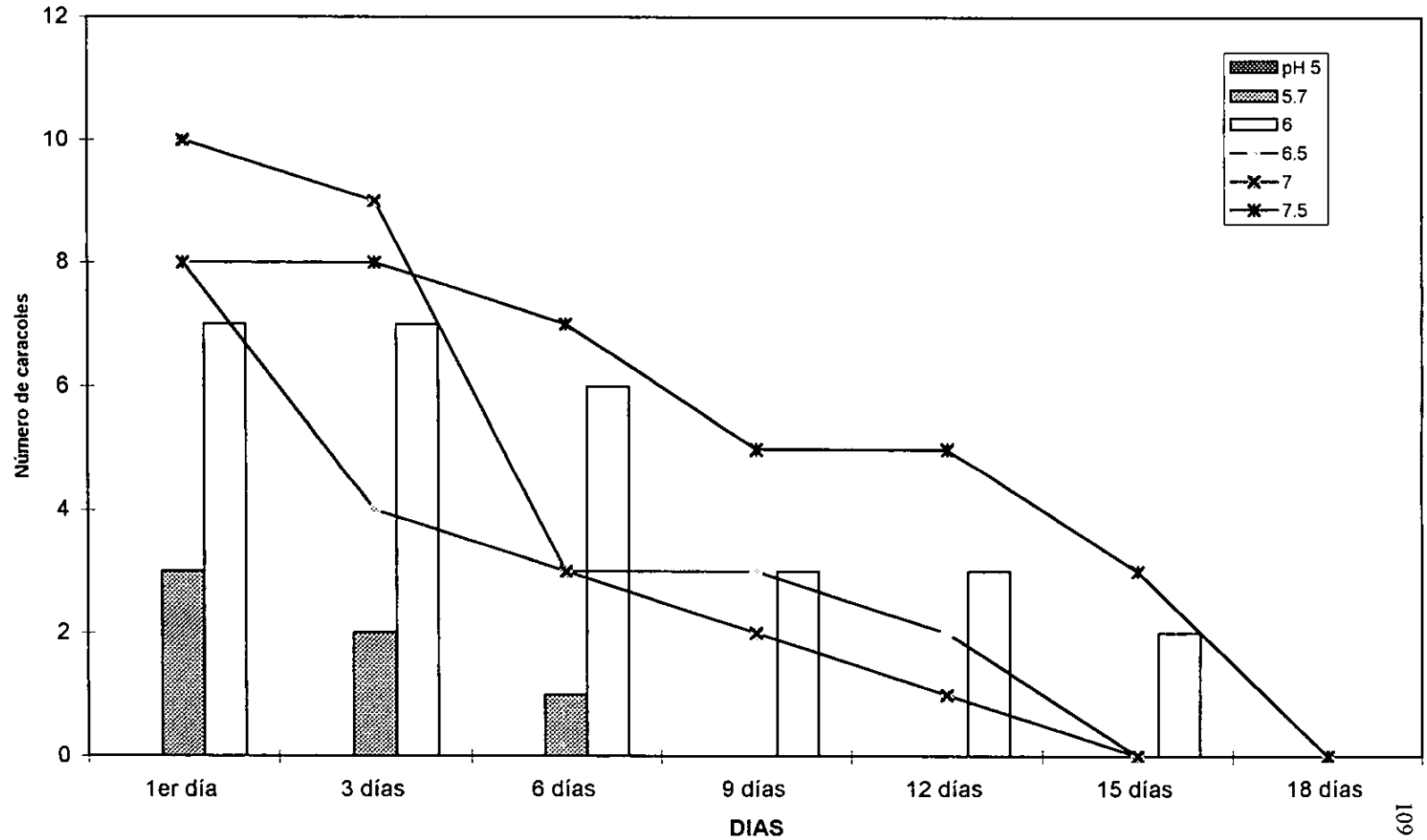
**= Número de esporoquistes fuera del paréntesis

***= Número de reñas fuera del paréntesis

a= Número de días dentro del paréntesis

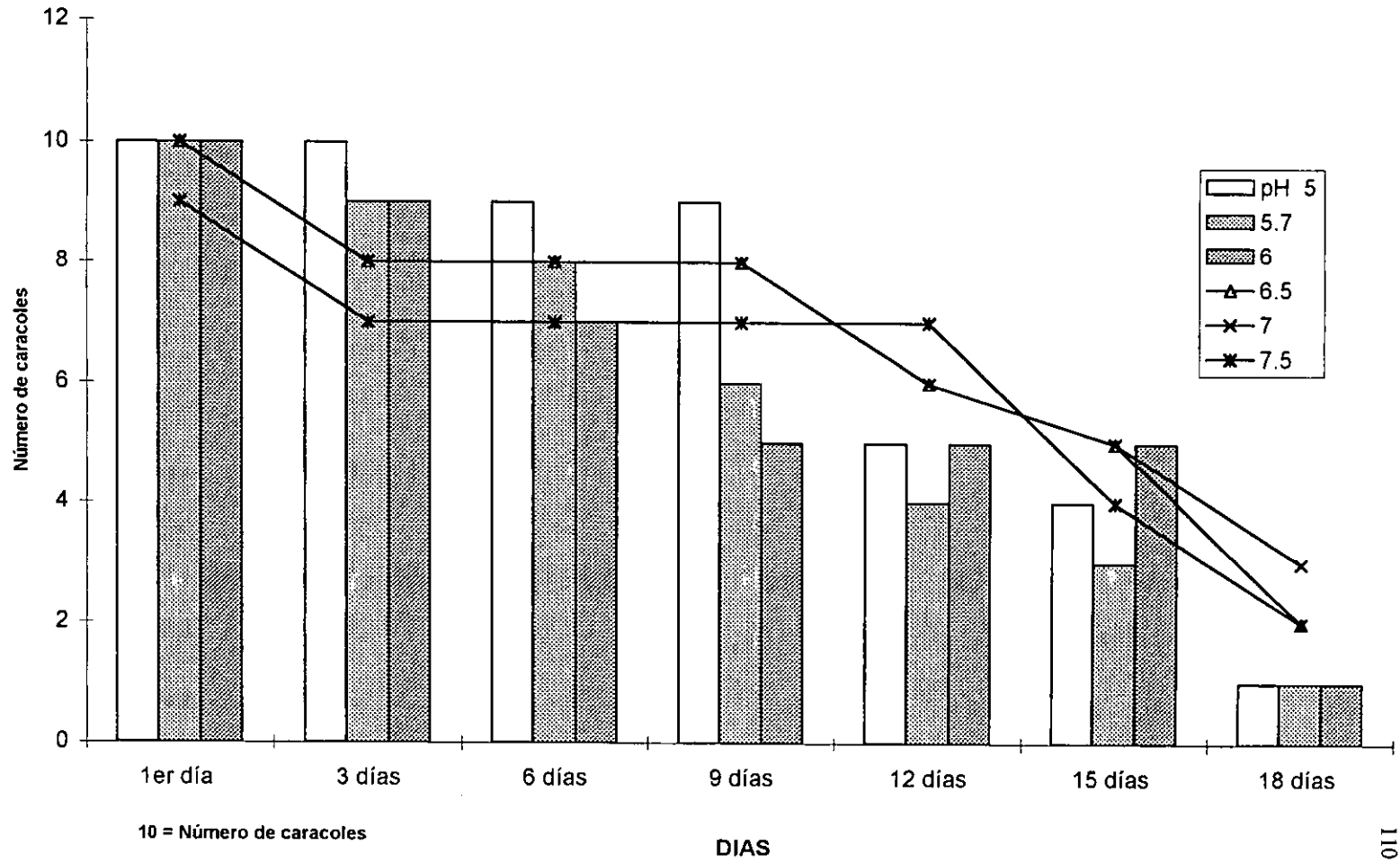
b= Número de caracoles muertos fuera del paréntesis

Figura 1
CARACOLES OBTENIDOS EN EL LABORATORIO INFECTADOS CON MIRACIDIOS DE ORIGEN BOVINO CON DIFERENTES pH



10 = Número de caracoles

Figura 2
CARACOLES OBTENIDOS EN EL LABORATORIO (GRUPO TESTIGO) EN DIFERENTES pH



Cuadro 3

**INFECCION DE CARACOLES OBTENIDOS EN EL LABORATORIO CON MIRACIDIOS DE ORIGEN BOVINO
CON DIFERENTES pH**

Fecha	GPT***	N C**	24/03/99	GPT***	26/03/99	GPT***	29/03/99	GPT***	31/03/99	GPT***	3/04/99	GPT***	5/04/99	GPT***	9/04/99	GPT***	12/04/99
pH	NC**		IC*			***
			1er día		3 días		6 días		9 días		12 días		15 días		18 días		
5	10	10	0	10	0	10	0	9	0	9	0	5	0	4	0	1	1
5.7	10	10	3	10	2	9	1	8	0	6	0	4	0	3	0	1	1
6	10	10	7	10	7	9	6	7	3	5	3	5	2	5	0	1	1
6.5	10	10	8	10	4	8	3	8	3	8	2	6	0	5	0	2	2
7	10	10	10	10	9	8	3	8	2	8	1	6	0	5	0	3	3
7.5	10	10	8	9	8	7	7	7	5	7	5	7	3	4	0	2	2
8	10	10	8	9	6	8	2	6	1	6	1	6	0	5	0	2	2
8.5	10	10	10	10	9	8	7	6	4	6	4	6	0	5	0	3	3
9	10	10	4	9	3	7	1	7	1	7	0	4		3	0	1	1
9.5	10	10	7	9	7	7	7	7	5	7	3	6	0	5	0	3	3
10	10	10	6	9	4	9	4	8	3	6	1	6	0	5	0	4	4
7.2	10	10	10	10	9	9	9	8	8	5	7	5	6	5	5	5	5

* = Inoculación de caracoles

**= Número de caracoles

***= Grupo testigo

Figura 3
INFECCIÓN DE CARACOLES OBTENIDOS EN EL LABORATORIO CON MIRACIDIOS DE ORIGEN BOVINO CON DIFERENTES pH

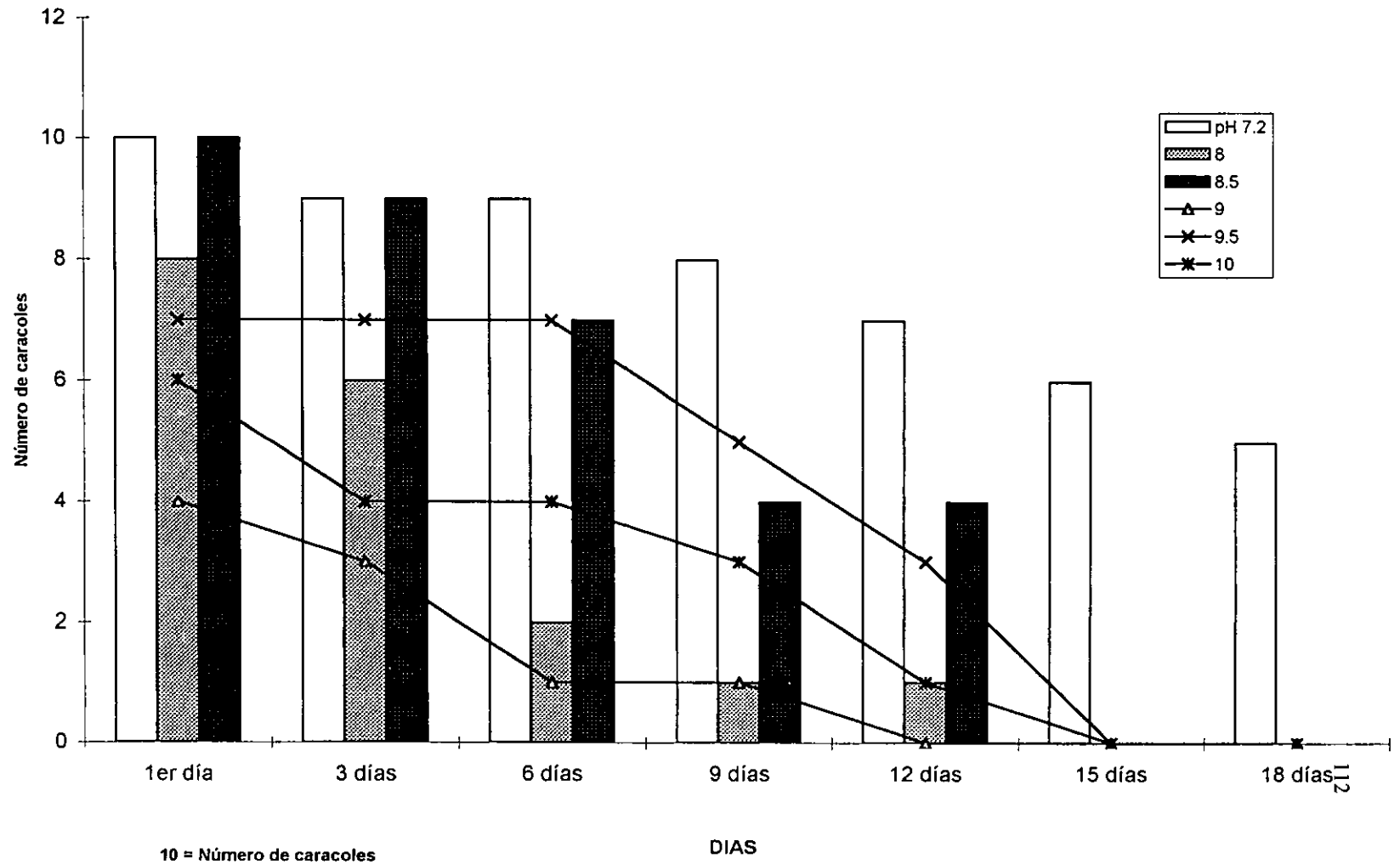
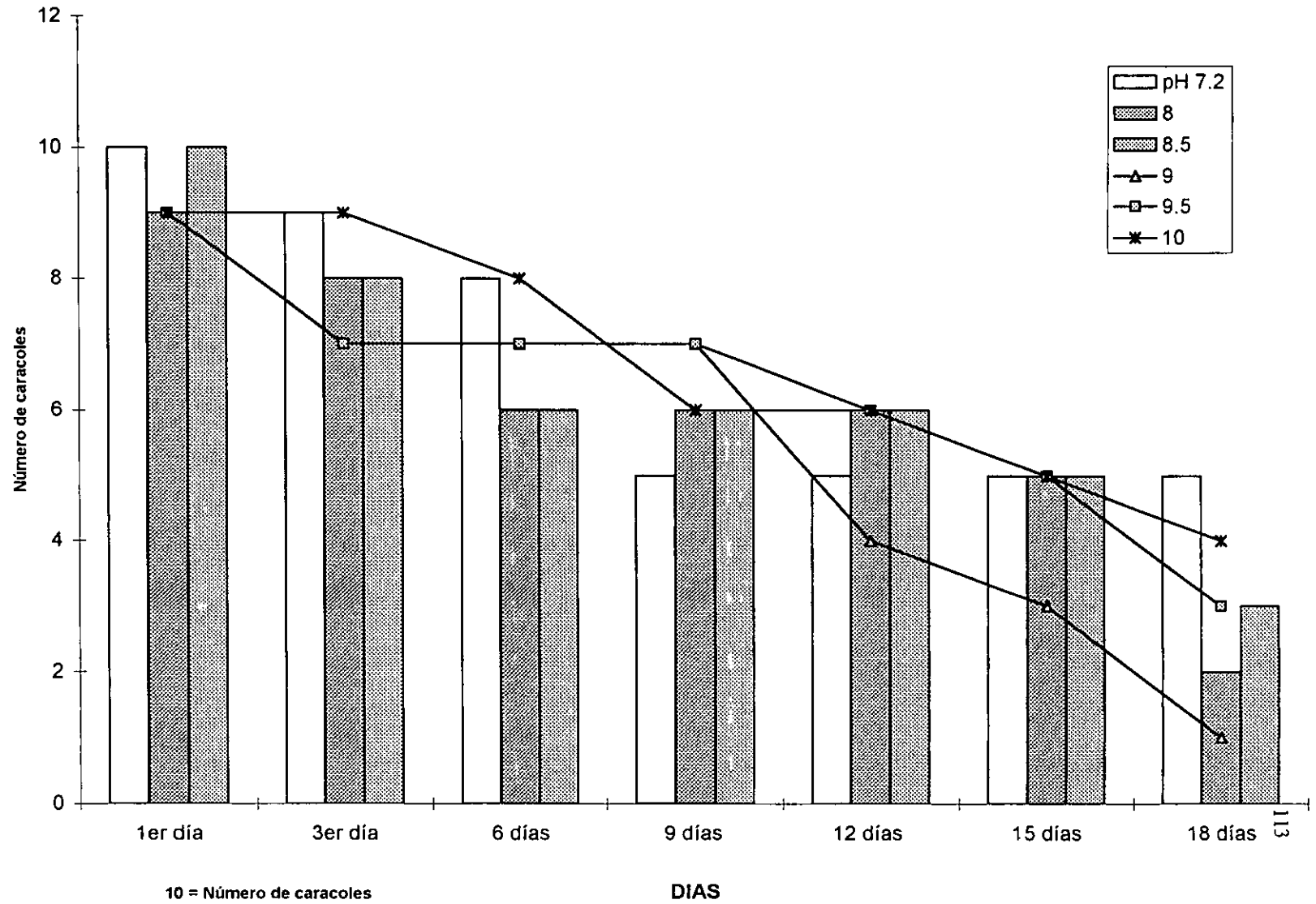


Figura 4
CARACOLES OBTENIDOS EN EL LABORATORIO (GRUPO TESTIGO) EN DIFERENTES pH



PROTOCOLO 5

EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD Y GRADO DE INFECTIVIDAD DE METACERCARIAS DE *Fasciola hepatica* ADMINISTRADAS EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO A CONEJOS Y RATONES.

Introducción

La variación en la susceptibilidad a la infección de caracoles limneidos puede estar determinada por las condiciones medio ambientales de un caracol, por factores inmunológicos, genéticos y por el tiempo de exposición a los miracidios

138,150

Además, existe otro factor que es la edad del caracol con relación al tiempo de exposición a la infección.

Kendall⁶⁰ demostró que caracoles de todas las edades pueden ser susceptibles a los esquistosomas y que la maduración de las cercarias, depende del tiempo y de alimento suficiente. Así los caracoles pequeños y sin alimento suficiente son incapaces de soportar el desarrollo normal del parásito, el mismo autor menciona que los miracidios de *F. hepatica* atacan a *L. stagnalis* de todas las edades, sin embargo, la infección no prospera en caracoles viejos y grandes, mientras que las redias se desarrollan y maduran sólo en caracoles juveniles.

Escudero *et al.*¹³⁸ menciona que para infectar a *L. humilis*, *L. cubensis* y *L. bulimoides*, bajo condiciones de laboratorio, utilizó dos técnicas de infección (masiva e individual) y determinó la susceptibilidad de las tres especies de caracoles a la infección con miracidios de *F. hepatica*. Además, observó que a las dos semanas de edad es cuando mejor se infectan las tres especies de caracoles. Independientemente del método de inoculación utilizado. *Lymnaea humilis* resultó ser la especie más susceptible a la infección con mayor número de caracoles liberadores y mayor número de cercarias liberadas. También menciona que en estas mismas especies entre las 2 a 4 y 6 semanas de edad no se encontraron diferencias en el porcentaje de viabilidad de las cercarias obtenidas.

También es importante considerar la resistencia del caracol huésped al ser infectado por *F. hepatica*. Pueden existir barreras para una infección inicial que esten determinadas por respuestas o mecanismos fisiológicos propios del caracol para contrarrestar la presencia de *F. hepatica* en el caracol *L. stagnalis*¹³⁸.

Kendall⁶⁰ describe que una vez infectado el caracol, se presentan barreras que interfieren con el desarrollo posterior del parásito, por lo regular en caracoles que no son huéspedes comunes de *F. hepatica*. La infección múltiple de un caracol puede ocurrir con miracidios de una especie de trematodo, considerándose como una infección normal el número de 4 a 5 miracidios, cuando existen infecciones múltiples hay mas posibilidad de que haya alta mortalidad entre los caracoles infectados. Observaciones en el campo han demostrado que infecciones simultáneas con más de una especie de trematodo no se presentan con mucha

frecuencia, por lo regular se presenta un mecanismo de resistencia dentro del caracol para no ser parasitado por una segunda especie de trematodo.

En el transcurso de la infección por *F. hepatica* en huéspedes intermediarios, no todas las cercarias maduran al mismo tiempo dentro de un solo caracol y, además, la emergencia de cercarias no es un proceso continuo.

Kendall⁶⁰ menciona que la temperatura y el grado de desarrollo del caracol son factores importantes que determinan casi en su totalidad la liberación de cercarias, además, señala que un ámbito de temperatura de emergencia apropiado de *Fasciola hepatica* en *Lymnaea truncatula* es entre 10°C y 26°C.

Boray¹⁵⁰ realizó un experimento sobre la producción de metacercarias de *F. hepatica* en *L. truncatula* señalando que no puede reproducirse ésta a temperaturas superiores a 28°C; además, ha demostrado que *L. tomentosa* es más adaptable a altas temperaturas produciendo metacercarias. Kendall⁶⁰ menciona que la luz no es un factor muy importante ya que la emergencia puede ocurrir en el día o en la noche y, describe que se ha demostrado con experimentos que el principal factor que determina la emergencia de la cercarias es la inmersión de los caracoles en agua limpia. El agua debe ser cambiada frecuentemente y, además, el recipiente que contenga el agua ser grande ya que un espacio restringido inhibe la emergencia.

Boray¹¹⁰ menciona que es necesario que pasen varios días después del enquistamiento de las metacercarias para que éstas, alcancen su completa infectividad en los huéspedes definitivos.

Dawes y Huges¹⁴⁹ describen que se ha encontrado que las metacercarias de 2 días son infectivas y Boray¹⁵⁰ dice que en su experiencia ha encontrado que las cercarias no son infectivas antes o inmediatamente después de su enquistamiento, pero que son completamente infectivas 24 horas después de haberse enquistado. Boray¹¹⁰ menciona que no se han encontrado diferencias en la viabilidad de grupos de metacercarias evaluadas 2, 5, 8, 16 y 30 días después del enquistamiento.

El enquistamiento de las metacercarias en la hierba sirve para mantener el ciclo de vida del parásito durante los períodos que son difíciles para la producción de cercarias¹⁵⁰.

Boray y Enigk¹⁵⁰ describen que las metacercarias pueden sobrevivir por largos períodos, pero no hay evidencias del efecto de la temperatura debajo de 0°C y muy poca información de su resistencia a la temperatura arriba de 25°C. Asimismo mencionan que las metacercarias de *F. hepatica* pueden sobrevivir durante condiciones usuales de invierno en Australia y aún en los países fríos de Europa; particularmente cuando las pasturas infectadas son cubiertas por la nieve. Las metacercarias son más susceptibles a la desecación que al enfriamiento. El enfriamiento no puede destruir a las metacercarias, sin embargo, causa cambios irreversibles que las hacen incapaces de infectar a los huéspedes definitivos. Una alta proporción de metacercarias de *F. hepatica* son viables e infectivas por lo menos 130 días con temperatura de 10°C, en 36 días a 25°C y 14 días a 30°C. El 50% de las metacercarias sobreviven por 60 días a temperatura de 25°C, y en 36

días el 20% de metacercarias a 30°C. Las metacercarias mueren cuando son mantenidas a una temperatura de 35°C por 143 días.

Boray¹⁴⁷ señala que cuidando los caracoles infectados con miracidios de *F. hepatica*, y manteniendo los cultivos a temperatura constante y una dieta standard, se obtienen mayor número de metacercarias, además, en los animales bajo experimentación que han sido infectados con las metacercarias, para completar el ciclo biológico del parásito, se recupera un gran número de parásitos.

Evaluación de la viabilidad de las metacercarias antes de ser utilizarlas para infectar a los animales.

La viabilidad de las metacercarias es evaluada en los siguientes aspectos: La morfología del quiste es importante, se observa la formación del gránulo excretor bajo el microscopio, cuando la metacercaria está viva. La capa externa de la metacercaria puede ser movida. El parásito joven tiene un movimiento activo, este es colocado en un sitio con una temperatura aproximada de 38°C; los quistes se observan muertos como masas difusas sin una característica definida y en algunas ocasiones se observan quistes vacíos¹⁴⁷. Las metacercarias son consideradas como completamente viables sólo si de 20 metacercarias, 18 están activas³¹.

Boray¹⁵⁰ describe que la viabilidad, infectividad y la patogenicidad de las metacercarias obtenidas pueden depender del manejo y almacenamiento después del enquistamiento. Otra forma de evaluar la viabilidad es inoculando metacercarias a los animales de laboratorio, se ha sugerido que la evaluación en ratones es la

más conveniente, y que la aparición de daño en el hígado es una prueba satisfactoria de viabilidad³¹

Anaya *et al*¹⁵¹ manifiestan que en condiciones de laboratorio para establecer el ciclo de vida de *Fasciola hepatica* en conejo, rata, cuyo, hamster y ratón; la rata y el conejo son especies más susceptibles.

Justificación

No se han realizado estudios para evaluar la viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *Fasciola hepatica* provenientes del caracol *Fossaria humilis* del campo y del laboratorio, administradas en diferentes estaciones del año a conejos y ratones, es por ello que se propuso y se realizó el siguiente estudio utilizando moluscos infectados obtenidos del campo en el rancho de la Universidad Autónoma de Tulancingo, Hidalgo y en el laboratorio (FMVZ UNAM), para comprobar que las cercarias obtenidas en el campo si son de *Fasciola hepatica* y para completar el ciclo biológico de *Fasciola*.

Objetivo

Determinar la viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *Fasciola hepatica* obtenidas en estado natural y obtenidas en el laboratorio, administradas en diferentes estaciones del año a conejos y ratones.

Hipótesis

Se obtendrá mejor viabilidad y grado de infectividad de metacercarias de *F. hepatica* en la época de otoño en conejos que en ratones.

Material y Métodos

Una vez obtenidos los caracoles del campo y cultivados en el laboratorio como se señaló en el protocolo 3 se trabajaron de la siguiente manera:

Trabajo experimental

A) Obtención de cercarias a partir de caracoles de campo y del laboratorio.

Los caracoles colectados fueron colocados de manera individual en bolsas de plástico con capacidad de 80 ml, con 40 ml de agua de la llave aereada, se sometieron a cambios bruscos de temperatura utilizando el método descrito en el manual Maff¹⁵² y por Endeje³¹.

Los caracoles se colocaron en refrigeración de 5 a 10 minutos y, enseguida bajo un foco de 100 watts a un metro de distancia durante 24 horas, todo esto con el fin de inducir la liberación de cercarias. Cada bolsa se marcó con un número, con el propósito de determinar que caracoles liberaron las cercarias, después las cercarias se dejaron reposar durante 24 horas en la bolsa de nylon, dentro de una caja de Petri, a temperatura ambiente. Una vez enquistadas las metacercarias se contaron sobre una caja de Petri cuadrículada en el fondo y con la ayuda de un contador manual, las metacercarias se guardaron en la misma bolsa de plástico

dentro de los tubos de ensaye, añadiéndoles agua de la llave hasta el tope de su capacidad y se sellaron.

B) Almacenamiento de las metacercarias obtenidas de caracoles colectadas del campo y caracoles criados en el laboratorio.

Una vez que las bolsas con metacercarias enquistadas fueron selladas, se almacenaron en el refrigerador a una temperatura de 4°C para su posterior utilización³¹. Se realizó la misma técnica de almacenamiento de las metacercarias, obtenidas de caracoles provenientes del campo, así como los criados en el laboratorio.

C) Evaluación de la viabilidad de las metacercarias

La viabilidad de las metacercarias se realizó en forma mecánica, después de haber obtenido las metacercarias provenientes de caracoles de campo y las obtenidas con caracoles criados en el laboratorio.

Solo se observaron 2 metacercarias obtenidas de los caracoles de campo, por que no había suficiente material; por las observaciones realizadas tenían el 100% de viabilidad, las restantes fueron utilizadas para inocular a los ratones. Cada metacercaria fue colocada en un portaobjeto, luego se procedió a observar las características morfológicas y, posteriormente se tocaron con una aguja de disección para observar el movimiento de la capa externa, lo mismo que el color el cual debe ser banquecino transparente indicando viabilidad, mientras que el color amarillento con una masa difusa indicó que no eran viables.

Se tomaron 25 metacercarias obtenidas de caracoles criados en el laboratorio, y se les hicieron las mismas observaciones de viabilidad como se explicó anteriormente.

d) Evaluación de infectividad de las metacercarias, en animales de laboratorio con metacercarias obtenidas de caracoles del campo.

Para determinar la infectividad de las metacercarias, se inoculó a ratones empleando metacercarias de caracoles capturados en el campo, para ello se siguió el método de Endeje³¹.

Los ratones fueron obtenidos de bioterio con un peso de 20 gr c/u y se colocaron en un lugar con condiciones controladas, 10 días antes de su inoculación. Para inocularlos se realizó lo siguiente:

En el año de 1997, se procedió a infectar 5 ratones con metacercarias obtenidas del mes de agosto, de ellos a 4 hembras se les administraron 4 metacercarias a cada una y a un macho 7 metacercarias. En el año de 1998 se infectaron 5 ratones con metacercarias obtenidas en el mes de noviembre de 1997, a 4 hembras se les administraron 8 metacercarias a cada una y a un macho 6 metacercarias, se utilizaron jeringas de 2 ml¹⁴⁷ con cánula depositando las metacercarias en la región gastroesofágica. El número de metacercarias fue administrado según la disponibilidad.

Posteriormente a los 25 y 30 días se colectaron muestras de heces de los animales a las que se les realizó la técnica de sedimentación, para observar la presencia de huevos de *Fasciola hepatica*. Los ratones se sacrificaron a los 28 y 51 días después de la inoculación para observar si existía presencia de los parásitos adultos en los conductos biliares, y determinar el número de las fasciolas presentes en cada animal, asimismo se determinó el grado de infectividad de las metacercarias administradas³¹.

Metacercarias obtenidas de caracoles criados en el laboratorio.

Para ello se utilizaron caracoles con edades de 22 a 25 días criados en el laboratorio y, que se habían inoculado con miracidios de *Fasciola hepatica*. Se siguió el método descrito por Endeje³¹ para obtener las metacercarias de los caracoles. Las metacercarias obtenidas fueron inoculadas a conejos.

Los conejos eran de raza Nueva Zelanda, con un peso de 2 Kg; después de inocularlos se mantuvieron por espacio de 45 días en el bioterio del laboratorio de Parasitología alimentándolos con alimento concentrado y agua.

En el año de 1998 se inocularon 3 conejos (2 hembras y un macho) con dosis de 60 metacercarias cada uno; en el año de 1999 se inoculó a 2 conejos hembras con 70 y 75 metacercarias respectivamente, administrándoseles las metacercarias en una cápsula de gelatina por vía oral.

Posteriormente a los 25 y 30 días se colectaron muestras de heces de esos conejos y se les realizó la técnica de sedimentación, para observar la presencia de huevos de *Fasciola hepatica*. Mas tarde, los 3 conejos, a los que se habían administrado 60 metacercarias se sacrificaron; a los 33, 34 y 36 días, los otros 2 conejos infectados con 70 y 75 metacercarias se sacrificaron a los 27 días para determinar el grado de infectividad de las metacercarias administradas³¹.

Análisis de los resultados.

La viabilidad de las metacercarias se observó mediante la evaluación que se describió en el inciso c: las características morfológicas, el movimiento y el color.

El grado de infectividad se obtuvo de acuerdo con el número de fasciolas adultas que se recuperaron de los hígados de ratones y conejos sacrificados.

Resultados

La viabilidad de las metacercarias de caracoles de campo y caracoles criados en el laboratorio fue del 100%.

Grado de Infectividad de las metacercarias de F. hepatica obtenidas de caracoles de campo en el mes de agosto de 1997 fue como sigue:

5 ratones (4 hembras y 1 macho) inoculados con 4 metacercarias de *F. hepatica*, en una hembra se obtuvo el 50% y en dos el 75% de infección, 2 y 3 fasciolas respectivamente, en el macho el grado de infectividad fue de 29% (2 fasciolas), el menor porcentaje se obtuvo en una hembra con el 25% (1 fasciola) (Cuadro 1).

Metacercarias obtenidas en el mes de noviembre de 1997, con tiempo en refrigeración de 82 días, fueron administradas a 4 ratones hembra infectando con 8 metacercarias a cada una y, a un macho con 6 metacercarias, el mayor porcentaje de infectividad se obtuvo en una hembra con 62.50% recuperándose 5 fasciolas; otra hembra con el 37.5% con 3 fasciolas; el menor porcentaje de infectividad fue el de una hembra con 12.50% (una fasciola), en el macho se obtuvieron 2 fasciolas con un 33% de infectividad de las metacercarias (Cuadro 1).

Grado de infectividad de metacercarias de Fasciola hepatica obtenidas de caracoles criados en el laboratorio administradas a conejos.- un conejo inoculado con 60 metacercarias (con 14 días en refrigeración), se le practicó la necropsia a los 34 días, encontrando 19 fasciolas adultas, con un 31.60% de infectividad de las metacercarias.

La menor infectividad de las metacercarias se obtuvo en dos conejos (metacercarias con 330 días en refrigeración) un conejo inoculado con 70 metacercarias, de él se obtuvieron 7 fasciolas, la infectividad de las metacercarias fue del 10% y en otro conejo inoculado con 75 metacercarias, en él se obtuvo el 5.3% de infectividad de las metacercarias (Cuadro 2).

Discusión

Se observó 100% de viabilidad de las metacercarias obtenidas de caracoles del campo, en los meses de agosto y de noviembre, asimismo con las metacercarias obtenidas de los caracoles criados en el laboratorio. Las metacercarias son

consideradas como completamente viables sólo si 18 de 20 se conservan vivas³¹ en este trabajo se observó el 100% de viabilidad al inocular los animales.

En los estudios realizados, por Boray *et al*¹⁵⁰ encontraron que las metacercarias pueden sobrevivir por largos períodos. La edad de las metacercarias de *F. hepatica* para ser viables e infectivas debe ser menor de 130 días a temperatura de 10°C, 36 días a 25°C y 14 días a 30°C. El 50% de las metacercarias sobreviven por 60 días a temperatura de 25°C y, el 20% 36 días a 30°C. Las metacercarias mueren cuando son mantenidas a 35°C por 143 días. En este trabajo las metacercarias se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4°C por 71 y 82 días, conservándose viables a 4°C.

Asimismo Boray¹⁵⁰ menciona que el ratón es una de las especies animales de laboratorio más susceptible a la infección, se ha sugerido que la evaluación en ratones es más conveniente y la aparición de daño en el hígado es una prueba satisfactoria de viabilidad de las metacercarias, lo cual se corroboró en el presente trabajo.

De las metacercarias obtenidas en el campo en el mes de agosto, se administraron en octubre, a 4 ratones hembra 4 por cada ratón y a un macho 7 metacercarias. A los 28 días se observaron, en un ratón hembra, 3 fasciolas inmaduras en el parénquima hepático (grado de infectividad del 75%). Estos resultados son similares a los encontrados por Lang¹⁵³ quien observó a los 28 días fasciolas inmaduras en el parénquima hepático de un ratón (Figura 1).

La necropsia a los 51 días en 2 ratones hembras reveló 1 y 2 fasciolas, siendo el grado de infectividad de 25 y 75% respectivamente.

En los ratones inoculados en el laboratorio y sacrificados a 51 días postinfección, se localizaron los parásitos en el conducto biliar al igual que en el trabajo de Manso *et al*³² quienes encontraron el parásito en el conducto biliar entre la quinta y novena semana.

A los otros 2 ratones, una hembra y un macho, se les encontraron 2 fasciolas a cada uno, siendo el grado de infectividad de 29 y 50% respectivamente, estos resultados pueden deberse a fallas en la inoculación, ya que algunas metacercarias pudieron quedar atrapadas en la cánula o bien a que algunas metacercarias ya no fueran viables.

Se sacrificaron a 4 ratones hembra y un macho. A los 51 días postinfección una hembra resultó negativa a la fasciola y, se recuperaron de los conductos biliares de 1 a 5 fasciolas por animal positivo, siendo el grado de infectividad de 12.5% y 62.5% Esta variación en cuanto al grado de infectividad pudo deberse a las mismas razones ya mencionadas anteriormente (Figura 2). Las fasciolas encontradas en este estudio presentaron una longitud ligeramente mayor (4 a 5.5 mm) que las registradas por Manso *et al*³² quienes describen que la longitud de las fasciolas encontradas por ellos fueron de 3 a 5 mm a las 3 y 6 semanas postinfección.

Con respecto al grado de infectividad de las metacercarias en conejos como ya se mencionó se obtuvieron en un macho el 31.60%, en 2 hembras el 26% en cada una. En los conejos inoculados con metacercarias de caracoles criados en el laboratorio y que fueron refrigeradas (330 días a 4°C), se encontró que la mayor

infectividad fue de 10% y la menor de 5.3%, esto concuerda cercanamente con lo mencionado por Boray¹⁵⁰. Ese autor señala que las metacercarias de *F. hepatica* son viables e infectivas por 130 días a 10°C. Así que muy posiblemente las metacercarias refrigeradas por 330 días, en este estudio, estaban perdiendo infectividad (Figura 3).

Acerca de la hipótesis: "se obtendrá mejor viabilidad y grado de infectividad de las metacercarias de *F. hepatica* en la época de otoño en conejos que en ratones". Se observó un mayor grado de infectividad en los ratones que en conejos esto concuerda con lo mencionado por Boray quien señala al ratón como el mejor animal para inocular en laboratorio. Por lo tanto no se probó la hipótesis planteada.

Conclusión

Se concluye que la viabilidad de las metacercarias de *Fasciola hepatica* obtenidas en el campo en los meses de agosto y de noviembre de 1997, al observar la morfología del quiste era del 100%, obteniéndose el grado de infectividad del 62.5%-75% en los ratones.

El grado de infectividad de las metacercarias obtenidas de caracoles criados en el laboratorio, inoculadas en conejos fue de 26 a 31.60%, siendo mas bajo que el obtenido en ratones.

Cuadro 1

OBTENCION DE FASCIOLAS EN RATONES INOCULADOS CON METACERCARIAS OBTENIDAS DE CARACOLES COLECTADOS EN EL CAMPO DEL MES DE AGOSTO Y NOVIEMBRE DE 1997.

Metacercarias de agosto							
Fecha de inoculación	Número de animales	Número de metacercarias	Tiempo de refrigeración	Técnica de Sedimentación	Técnica de Sedimentación	Necropsia 51 días	Porcentaje de infección
9/10/97	1 hembra	4	71	negativo	negativo	3 fasciolas *	75%
	1 hembra	4	71	negativo	negativo	2 fasciolas	50%
	1 hembra	4	71	negativo	negativo	1 fasciola	25%
	1 hembra	4	71	negativo	negativo	3 fasciolas	75%
	1 macho	7	71	negativo	negativo	2 fasciolas	29%
Metacercarias de noviembre							
18/11/98	1 hembra	8	82	negativo	positivo	3 fasciolas	37.50%
	1 hembra	8	82	negativo	positivo	1 fasciola	12.50%
	1 hembra	8	82	negativo	positivo	5 fasciolas	62.50%
	1 hembra	8	82	negativo	positivo	negativo	0
	1 macho	6	82	negativo	positivo	2 fasciolas	33%

* = 28 días 3 fasciolas inmaduras

Cuadro 2

OBTENCIÓN DE FASCIOLAS PROCEDENTES DE CONEJOS INOCULADOS CON METACERCARIAS OBTENIDAS DE CARACOLES CRIADOS EN EL LABORATORIO DE LA 4ª Y 5ª GENERACIÓN

Fecha de Obtención de metacercarias	Animales	Fecha de inoculación	Número de metacercarias	Tiempo de refrigeración de las metacercarias	necropsia	Número de fasciolas	Porcentaje de infección
26/01/98	hembra	17/02/98	60	21 días	33 días	16	26%
3/02/98	hembra	17/02/98	60	14 días	34 días	19	31.60%
16/02/98	hembra	17/02/98	60	1 día	36 días	16	26%
16/02/98	hembra	24/03/99	75	330 días	27 días	4	5.30%
16/02/98	hembra	24/03/99	70	330 días	27 días	7	10%

Figura 1
Grado de infectividad de las metacercarias de *Fasciola hepatica* inoculadas a 5 ratones obtenidas de caracoles de campo del mes de agosto

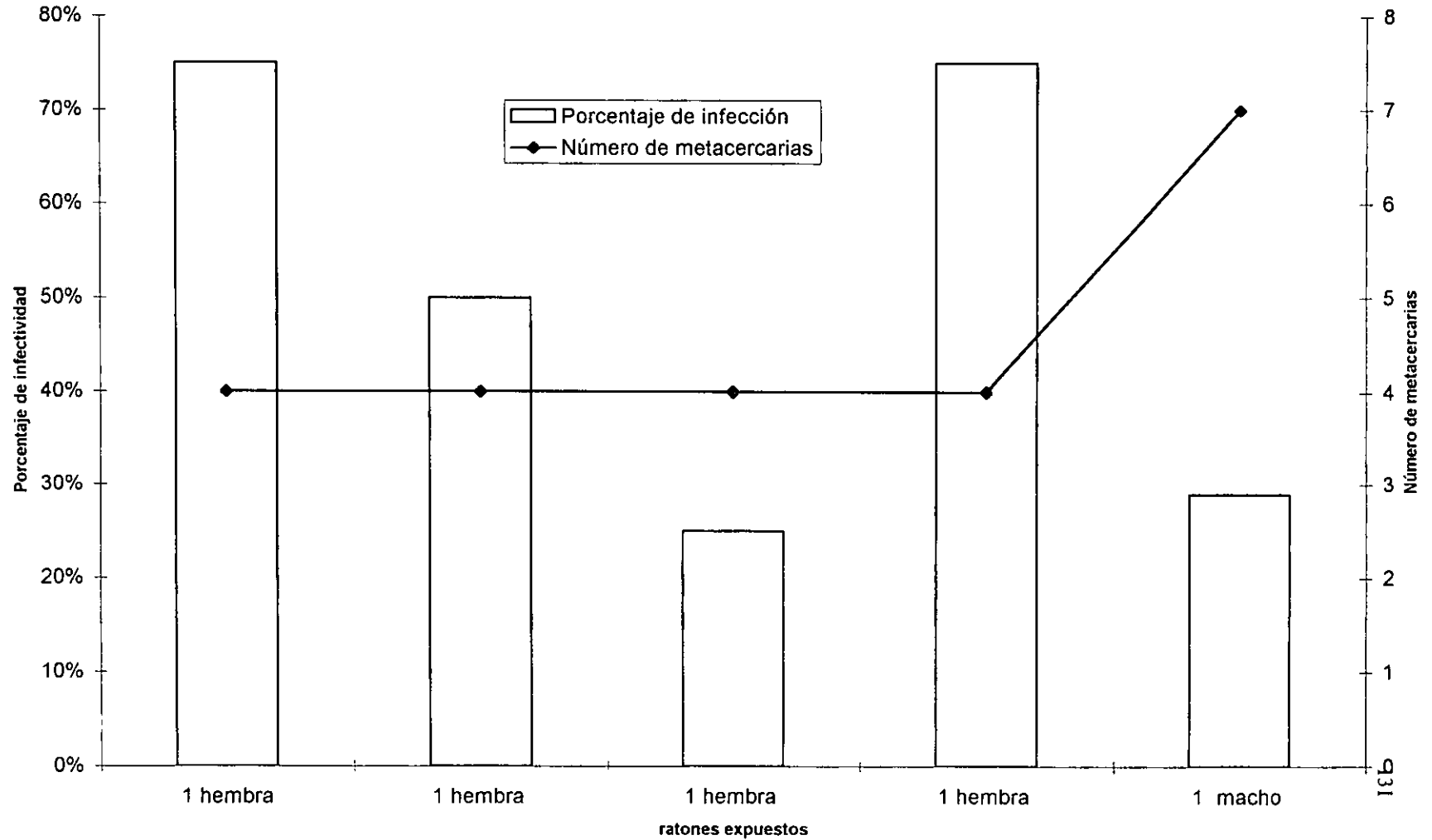


Figura 2
Grado de infectividad de metacercarias de *Fasciola hepatica* inoculadas a ratones obtenidas de caracoles de campo del mes de noviembre

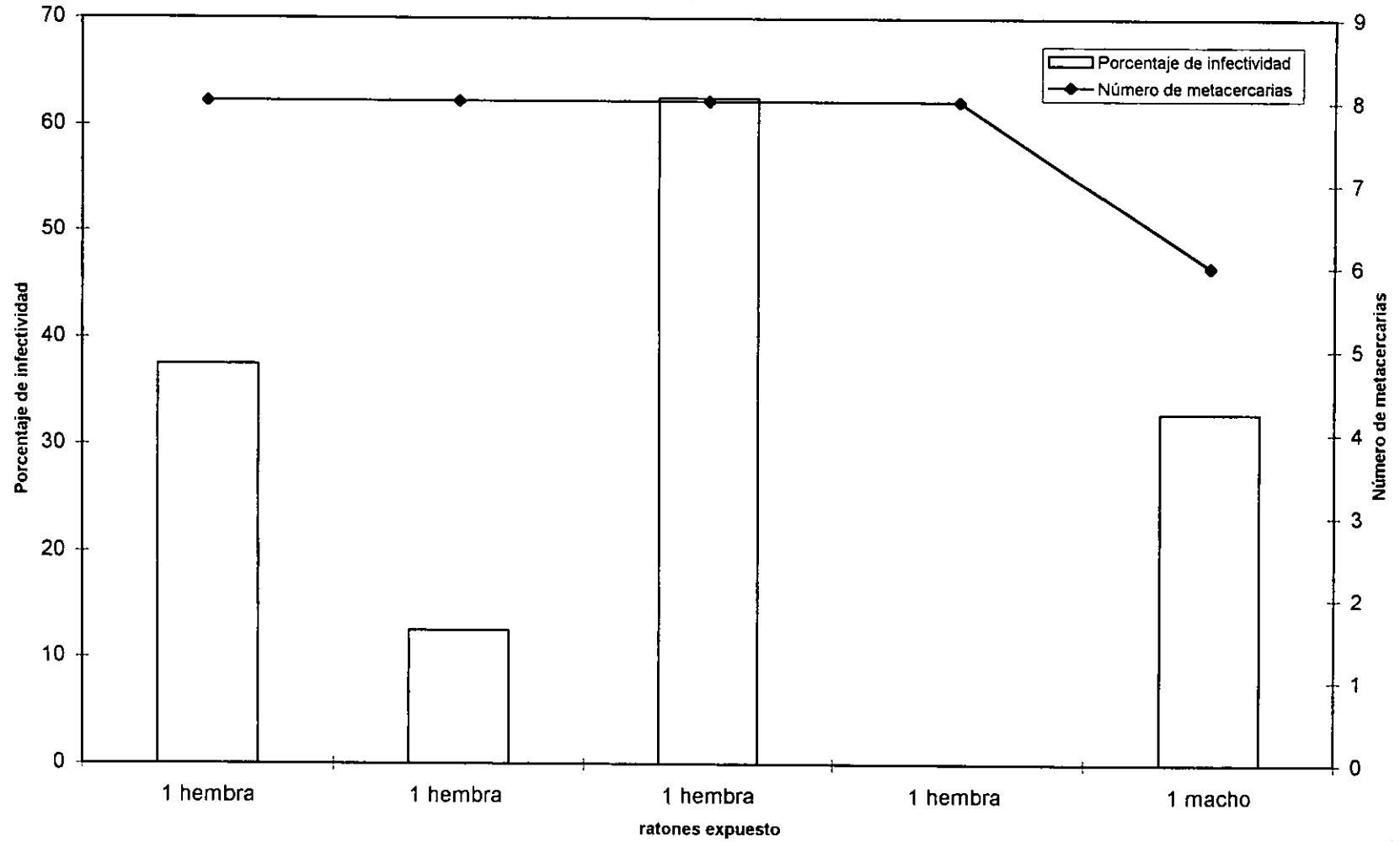
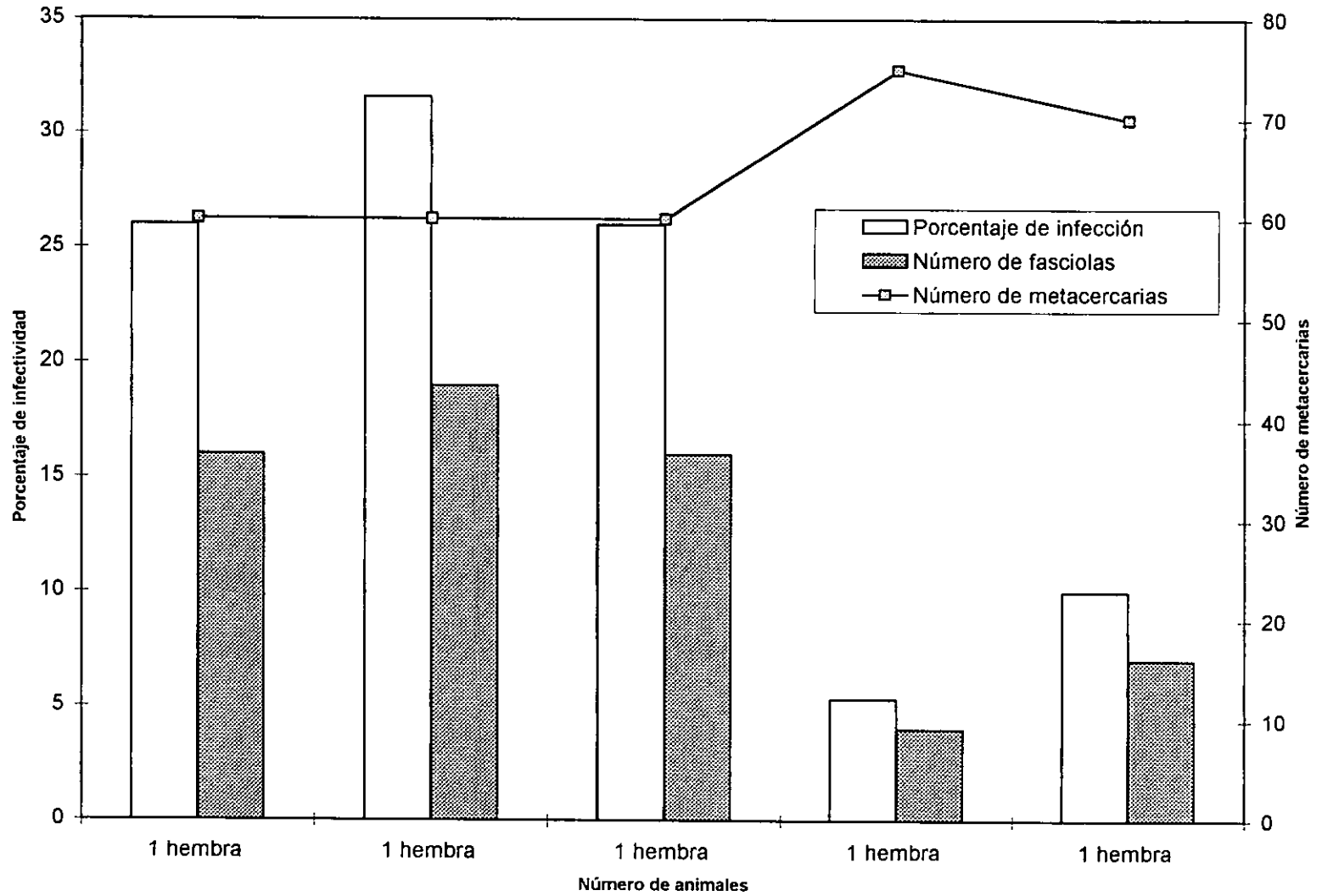


Figura 3
Grado de infectividad de metacercarias de *Fasciola hepatica* inoculados a conejos obtenidas de caracoles criados en el laboratorio



CONCLUSIONES FINALES

1. - En el presente trabajo en los años de 1997 y 1998, en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo del municipio de Tulancingo, Hgo. Se notó que el ganado bovino presentó una prevalencia de *Fasciola hepatica* en los meses de noviembre, diciembre de 1997 y en enero, febrero y marzo (otoño e invierno) de 1998 con 100% y 80% respectivamente, y en los caracoles se encontraron las fases evolutivas de *Fasciola hepatica* en los meses de agosto a noviembre.
- 2.- Se identificaron los siguientes moluscos: *Fossaria humilis* como huésped intermediario de *F. hepatica* y como asociados: *Physa cubensis*, *Helix aspersa*, *Succinea* sp. y *Planorbella (Pierosoma) trivolvis*, en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo.
- 3.- Se identificó a *Fossaria humilis*, como huésped intermediario de *Fasciola hepatica*, en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo.
- 4.- El porcentaje de infección como fases evolutivas de *F. hepatica* encontrado dentro de caracoles de campo fue: 2.1% de esporoquistes, 3.69% de redias y 2.6% de cercarias y en caracoles cultivados en el laboratorio fue: 15% de esporoquistes, 17.50% de redias y 11% de cercarias.
- 5.- Las metacercarias obtenidas en el campo fueron 100% viables durante los meses de agosto y noviembre de 1997 y el grado de infectividad de las metacercarias en ratones fue del 62.5 al 75%.

LITERATURA CITADA

- 1.- García ER, Romero QH, Molina GC, Galván OP. Frecuencia de fasciolosis *hepatica* e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferrería, México. Vet Mex 1989;20: 423-426.
- 2.- Rangel RJL. Estudio poblacional de la fasciolosis en el estado de Tabasco. (tesis doctoral) México, D. F. México: Facultad de Ciencias UNAM, 1995.
- 3.- Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. Limusa México, D. F. 1986:232-249.
- 4.- Soulsby LJE. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. Interamericana México, D. F. 1987:36-47.
- 5.- Mazzotti L. *Lymnaea obrusa* (Say), huésped intermediario de *Fasciola hepatica*. Revista del Instituto de la Salud y Enfermedades Tropicales 1955.
- 6.- Mazzotti L. *Lymnaea humilis* (Say) huésped intermediario de *Fasciola hepatica*. Revista del Instituto de Salud y Enfermedades Tropicales 1956;16:21-23.
- 7.- Ibarra VDF. Identificación y diagnóstico de fasciolosis. Rev Cebú 1985;11(9)94-102.
- 8.- Bautista CR, García MA. Fasciolosis en rumiantes. Folleto divulgativo No. 1 México CENID Parasitología Veterinaria INIFAP, 1993.
- 9.- Rangel LS, Martínez E. Pérdidas económicas por decomiso de hígados y distribución geográfica de la fasciolosis bovina en el estado Tabasco. Vet Mex 1994;25:327-331.
- 10.- Ramírez VJJ, Vergani F. Contribución al estudio del ciclo evolutivo de la *Fasciola hepatica* en Venezuela. Rev Gracolom Zootec 1949;3.

- 11.- Sánchez AA, Herrera RD, Barrios DZ. Incidencia de fasciolosis decomisado de ganado Holstein nativo de la región sacrificado en el rastro Municipal de Tulancingo, Hgo. Téc Pec México 1976;30:110.
- 12.- Quiroz RH. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en ganado bovino en México. Memoria. XX Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco Gro. México. As Mex de Med Vet Esp en Bov México, D. F. 1996.
- 13.- Lapage G. Parasitología Veterinaria. CECSA, México 1971:235-241.
- 14.- Wamae LW. Bull Anim. Health. Prod. Afr. National Veterinary Research Centre. Muguga, P. O. Box 32 Kikuyu Kenya Africa 1991;2:11-17.
- 15.- García CF. Pérdidas económicas por decomiso de hígados parasitados con *Fasciola hepatica* en bovinos procedentes del estado de Veracruz, sacrificados en el rastro La Paz Edo. de México. (Tesis licenciatura). México, D. F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1975.
- 16.- Sánchez TS. Prevalencia y alteraciones macroscópicas por *Fasciola hepatica* en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Jalapa Veracruz en el periodo comprendido de Nov. 73 a 74 y su repercusión económica. (tesis licenciatura). Veracruz (Veracruz) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ. Veracruzana, 1974.
- 17.- De la Rosa OA. Pérdidas económicas en el Municipio de Tulancingo, Hgo. causadas por el decomiso de hígados parasitados con *Fasciola hepatica*. (tesis licenciatura). México, D. F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1975.
- 18.- Vásquez. VM. Pérdidas económicas causadas por el decomiso de hígado ovinos

- infectados con *Fasciola hepatica* en el rastro de Milpa Alta. D. F. en el periodo comprendido de diciembre a marzo de 1978-79. (tesis licenciatura). México, D. F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1980.
- 19.- Riva PS. Evaluación de las pérdidas económicas ocasionadas por el decomiso de hígados de ovinos por *Fasciola hepatica* en el Rastro Municipal de Toluca de junio de 1984 a junio de 1985. (tesis de licenciatura). México, D. F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1987.
- 20.- Miranda MMA. JA. Pérdidas económicas ocasionadas por el decomiso de hígados parasitados por *Fasciola hepatica* en ovinos sacrificados en el rastro municipal Tlanepantla de Baz Edo. de México. Med Fis Nat, 1993;1: 59.
- 21.- Gómez AT, Pérez RR, Zerón BF. Fasciolosis en México. Estado actual y huéspedes intermediarios. Rev Lat Amer Microbiol, 1978:20. 1981:22-334.
- 22.-Castro TI. Huéspedes intermediarios de *Fasciola hepatica* y trematodos paramfistómidos en México " Enfermedades Helmínticas de Importancia Sanitaria y Económica" Curso Internacional. 20-22 de agosto 1997. México. México D. F. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. 1997:53-58.
- 23.- Price E W. The fluke situation in American ruminants. J Parasitology 1953; 39.
- 24.- Robles T M. Prevalencia Anual de fasciolosis en bovinos de Tulancingo, Hgo. México. (tesis de licenciatura). México D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
- 25.- Ballesteros RG, Guerrero MC, Vega AN, Quiroz RH. Valoración del control de *Fasciola hepatica* en vacas tratadas con triclabendazol. Memorias de IX Congreso

- Nacional de Buiatría Torreón Coahuila 1995. 15° Asociación de Médicos veterinarios Especialistas en bovinos. México, D. F. 1995.
- 26.- García de Miranda E. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Koppen. 3ª ed. México (DF): Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México 20, D.F. 1981:21-22.
- 27.-Manga YG, González LC. Some aspects of *Lymnaea truncatula* (Mollusca Basommatophora) helmintho fauna in the Porma basin (León NW Spain) Abstracts of the tenth International Malacological Congress Tubingen. 1989:154
- 28.- Burch JB, Cruz RA . Clave genérica para la identificación de gastropodos de agua dulce en México. Primera edición Instituto de Biología UNAM 1987.
- 29-Hubendick B. Recent Lymnaeidae. Their variation morphology taxonomy, Nomenclature and Distribution. K Svensk Vetensk Handl 1951;3:(1).
- 30.- Mc Craw BC. Studies on the anatomy of *Lymnaea humilis* (Say). Can J Zool 1957;35:751-767.
- 31.- Endeje MS. Evaluación de diversos parámetros en la relación parásito (*Fasciola hepatica*) hospederos intermediarios (*Lymnaea columella*) provenientes de dos localidades. (tesis biólogo). México. Facultad de Ciencias. UNAM. 1986.
- 32.-Manso OE, Monteagudo MA, Pérez SH, Alberto BE. Obtención de metacercarias de *Fasciola hepatica* en *Lymnaea cubensis* y relación parásito-hospedero en ratas Wistar y ratones Balb/C. Vet Med 1999; 30(1):109-114.

- 33.- Hansen J, Perry B. The epidemiology, diagnosis and control of Helminth Parasites of Ruminants, International Laboratory for Research on Animal Diseases. (ILRAD) Nairobi, Kenya 1994:66-72.
- 34.- Navarro FB. Introducción a la estadística. MCGRAW-Hill, México, D. F., 1987.
- 35.- Greene W H. Econometric Analysis. Tercera edición. Prentice Hall. 1997.
- 36.- Vera MRY. Evaluación de diferentes dietas alimenticias para cultivo en condiciones de laboratorio de *Lymnaea bulimoides*, *L. cubensis* y *L. humilis* (tesis de licenciatura) México. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. UNAM 1985.
- 37.- Landeros VMA, Ibarra VF, Escudero CJL, Milián SF. Determinación de algunos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en la cuenca lechera de Tulancingo Hidalgo. Tec Pec en México 1981: 40.
- 38.- Perera De Puga G, Yong CM, López FRJ. Control biológico de *Fossaria cubensis*, hospedero intermediario de *Fasciola hepatica* en 2 localidades con diferentes agentes de control. Rev Cubana Med Trop 1991;43(1):17-20.
- 39.- Rangel RJL. Izquierdo MR. Nogueira BG. Bovine fasciolosis in Tabasco, México. Vet Parasitol 1999;81:119-127.
- 40.- Nari A. Cardoso H. Prevalencia y distribución geográfica de la Fasciolosis hepatobiliar en Bovinos de carne del Uruguay. Veterinaria 1976; 13(63):11-16.
- 41.- Manga GY, González LC, Otero MCB. Natural infection of *Lymnaea truncatula* by the liver fluke *Fasciola hepatica* in the Porma Basin, León, NW Spain. J of Parasitology 1991;88:15-27.

- 42.-Malone JB. Loyacano AF. Hugh JME, Corkum KC. A three year study on seasonal transmission and control of *Fasciola hepatica* of cattle in Louisiana. *Prev Vet Med* 1984/1985;3:131-141.
- 43.- Bruno S, García D M. Silva EV, Francis M, Brito DB. *Fasciola hepatica* (Linnaeus 1758) Em bovinos do municipio de Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol al Día* 1995;19:65-68.
- 44.- Ross JG. A combined investigation of the epidemiology of *Fasciola hepatica* infections in lambs and the ecology of *Lymnaea truncatula*. *VET REC.* 1970 87: 278-282.
- 45.- Ross JG. A five-year study of the epidemiology of Fascioliasis in the North, east and west of Scotland. *Br Vet J* 1977 133(3):133-263.
- 46.- Morales CGA. Pino LA. Perdomo L. Utilidad del conocimiento del tamaño del molusco *Lymnaea cubensis* en la implementación de Programas de Control de la Distomatosis hepatica. *Rev Fac Ciens Vets UCV.* 1986; 33(1-4):27-37.
- 47.- Manga GY. Enfermedades Helmínticas de Importancia Sanitaria y Económica Curso Internacional. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1997;39-52.
- 48.- Moreno A. Consideraciones biológicas sobre nuestros moluscos fluviatiles de interés médico. *An Acad Cien Med Fis Nat* 1938;1:59.
- 49.- Richard B. Fundamentos de Zoología. Ed Limusa: 1985.
- 50.- Robert DB. Zoología de los Moluscos. Ed. Interamericana: S A., 1969:294-311.
- 51.- Boray JC. The potential impact of exotic *Lymnaea* spp. on fascioliasis in Australasia. *Vet Parasitol* 1978;4:127-141.

- 52.- Castro TL, Mata E, González OA, Casas RJL, Salinas H. Epidemiología de la fasciolosis bovina en el estado de Durango. 3a. Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, 1982 México. México (DF): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, AC, 1982:30-31.
- 53.- Castro TL, Cruz LA. Gastropodos pulmonados dulceacuicolas (identificación) e importancia en el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* en el Estado de Puebla. 2a. Reunión Anual de Parasitología Veterinaria; 1982 México. México (DF): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, AC, 1982: 13-14.
- 54.- Castro TL, Mata RE, González OA, García VZ. Estudio integrado de la fasciolosis bovina en el Estado de Durango. XVIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria en México, Nov-Dic 1983 México. México (DF): Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Universidad Nacional Autónoma de México 1983:254-257.
- 55.- Ponder WF. The occurrence of *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* an intermediate host of *Fasciola hepatica*, in Australia. Aust Vet J 1975; 51.
- 56.-Malek EA. Snail-transmitted Parasitic Diseases. CRC Press. Florida 11. 1980:131-137.
- 57.- Harris RE, Charleston WAG. Fasciolosis in New Zealand: A review. Vet Parasitol 1980:7.
- 58.- Malek EA. Laboratory Guide and Notes for Medical Malacology. Burgess Publishing Company Minneapolis 1962.
- 59.- Burch JB. North American freshwater snails. Malacological Publications Michigan 1989: 365.

- 60.- Kendall SB. Relationships between the Species of *Fasciola* and their Molluscan Hosts. *Advances in Parasitology*. 1965;3: 59-98.
- 61.-Taylor EL. La fasciolosis y el *Distoma hepatico* FAO: Estudios Agropecuarios 1965; 64: 250
- 62.- Boray JC. The Ecology of *Fasciola hepatica* with particular reference with its intermediate host in Australia. *Proc World Vet Congress Hanover 1963b* section 6.
- 63.- Jackiewicz M. Badania nad Zmiennoscia i stanowiskiew systematy cznym *Galba palustris* O.F. *Mull Poznanski Tow Przyj Nauk Wydz Mat Pazyr Prace Komisji Biologicznej* 1959.
- 64.-Torres TJL. Cultivo de *Lymnaea humilis* y *Lymnaea columella* con diferentes dietas en condiciones de Laboratorio (tesis de licenciatura) Morelos (Cuernavaca) México: Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Estado de Morelos, 1991.
- 65.- Pantelouris EM. The common liver fluke *Fasciola hepatica* L. Pergamon Press. Oxford.1965:3-21.
- 66.- Santos VC. Datos preliminares sobre la prevalencia de *Fasciola hepatica* en dos especies de caracoles de Atlangatepec, Tlaxcala. V Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, 1984 mayo, Toluca Estado de México. México (DF) Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, AC.1984:89-90.
- 67.- Yong CM, Perera de Puga G. Estudio de la morfología externa e interna de los hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica*. *Rev Cubana Med Trop* 1991; 1: 13-16.

- 68.- Yong CM, Perera de Puga G, López R J. Identificación conquiológica de moluscos hospederos de *Fasciola hepatica* en Cuba. Rev. Cubana Med. Trop. 43(3): 1991.
- 69.- Rangel RJL. Seasonal variation in *Fossaria viatrix* in the municipality of Teapa, Tabasco, México Malacol Rev 1999; 28: 71-79.
- 70.- Paraense WL. *Helisoma trivolvis* and some of its synonyms in the Neotropical region (Mollusca: Planorbidae). Rev Bras Biol 1976;36(1):187-204.
- 71.- Contreras AA. Caracoles dulceacuícolas (Mollusca: Gastropoda) de la subcuenca San Juan, Tributario del río Bravo, Noreste de México. (tesis de licenciatura) México. Facultad de Ciencias Biológicas. Univ Auton de Nuevo León, 1991.
- 72.- Paraense LW. *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 (Pulmonata: Physidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1987;82(1):15-20.
- 73.- Quick HE. The Anatomy of British *Succinea*. Proceedings of the Malacological Society 1933; 295-318.
- 74.- Franzen SD. *Succinea avara* Say from the southern great plains of the United States. The Nautilus 1982; 96(2):82-88.
- 75.- Patterson MC. Studies on Succineidae. Annual reports of the American Malacological Union 1967;31-32.
- 76.-Patterson MC. Taxonomic Studies of the Succineidae (Gastropoda Stylommatophora). Adv Abstr Contr Fish Aquat Sci India 1967; 1(4):39-40.
- 77.- Manga GY. Los Helicidae (Gastropoda, Pulmonata) de la provincia de León Institución "Fray Bernadino de Sahagún" E.X.C.M.A. Diputación Provincial de León Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CECEL). 1983.

- 78.-Taylor EL. The epidemiology of fascioliasis in Britain Proc 14 th Int Vet Congr London 1949; 2:81-87.
- 79- Ramírez R. Esporocisto de *Leucochloridium* (Trematoda), Leucochloridiidae) en *Succinea peruviana* (Mollusca, Succineidae). Anales Inst Biol Univ Nac Autón México Ser Zool 1992;63(2):173-177.
- 80.- Taylor M. Water snails and liver flukes. Nature, 1922:110.
- 81.- Bednarz S. On the biology and ecology of *Galba truncatula* Mull and cercariae of *Fasciola hepatica* in basin of the river Barcyys. Acta parasitol Polon, 1960:8.
- 82.- Ollerenshaw CB. Some observations on the epidemiology and control of fascioliasis in Wales. Second International liver fluke Colloquium 1967; 103-125.
- 83.-Sampaio XL, Martínez FAR, Mattos SMA. The susceptibility to *Fasciola hepatica* of some fresh-water snails in Portugal and Spain. Second Inter Liver Fluke Colloquium, 1967: 179.
84. - Ollerenshaw CB. Quelques aspects des relations entre le climate et l'incidence de la fasciolose en Europe. Le cahier de Med Vet. 1971; 303-319.
- 85.- Boch J, Supperer R. Veterinarmedizinische Parasitologie. Cip-kurztitelaufnahme der Deutschen Bibiotehek, 1977; 93-105.
- 86.- Rondelaud D. The characteristics of redial generations in *Lymnaea truncatula* exposed to *Fasciola hepatica* miracidia after poisoning by sublethal doses of cupric chloride. Vet Res 1995; 6:1,21-26.
- 87.- Rondelaud D, Vignoles P, Dreyfuss G. Characteristics of infection in *Lymnaea truncatula* Muller in relation to snail age at exposure. Bulletin de la Societe Francaise de Parasitologie 1997;15:2, 77-184.

- 88.- Bargues MD, Mas CS. Phylogenetic analysis of lymnaeid based on 18S DNA sequenses. *Molecular Biology and Evolution* 1997; 14: 5, 569-577.
- 89.- Rondelaud D, Dreyfus G. Natural infection of *Lymnaea glabra* by *Fasciola hepatica* in two watercress beds of the Haute Viene. *Bulletin de la Societe Francaise de Parasitologie* 1998; 2:291-297.
- 90.- Dreyfuss G, Viginoles P, Rondelaud D, Vareille M C. Characteristics on infection in *Lymnaea truncatula* in relation to the number of miracidia at exposure. *Experimental Parasitology* 1999; 92: 1,19-23.
- 91.- Abrous M, Romieux L, Dreyfuss G, Rondelaud D, Mage C. Proposition of a simple method for the production of *Fasciola hepatica* metacercariae from the snail *Lymnaea truncatula*. *Revue de Medecine Veterinaire* 1998;149: 10, 943-948.
- 92.- Augot D, Abrous M, Rondelaud D, Cabaret J. An unusual development of redial generations in an isolate of *Lymnaea truncatula*. *J of Helminth* 1999; 73:1, 27-30.
- 93.- Shirai M. On the intermediate host of *Fasciola hepatica* in Japan. *Sci Rept Gov Inst Inf Fis Tokyo Imp Univ*, 1925:4.
- 94.- De Jesus Z. *Lymnaea philipinensis*, an intermediate host of *Fasciola hepatica* in the Philippines with some observations on the bionomics of the parasite. *Philipp J Sci*, 1935: 58.
- 95.- Kawana H. Study on the development of the excretory system of *Fasciola hepatica* L. with special reference to its first intermediate host in central China. *J Shanghai Sci Inst*,1940: 5.
- 96.- Srivastava HD. The intermediate host of *Fasciola hepatica* in India. *Proc Indian Sci Congr*, 1944:111.

- 97.- Petronchenco VI. Veduscaia rol mollusca malogo prudovica (*Galba truncatula*) V, Rasprostraneni fascioleza. Zool Zurnal, 1954:33.
- 98.- Itagaki H. Relation between the prevalence of fascioliasis and the distribution of the snail intermediate host of the liver fluke. Bull Biograph Soc Japan, 1958: 20.
- 99.- Watanabe S. Infestation of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea truncatula* in Nigata Prefecture. J Jap Vet Med Ass, 1955:8.
- 100.- Watanabe S. Fascioliasis of the ruminants in Japan. Jap Agric Res Q 1967; 2: 22-27.
- 101.- Rafyi A, Eslami H. Etal actuel de nos connaissances sur les fascioloses en Iran. Les Cahiers de Medicine Veterinaire 1971:6.
- 102.- Hussain T, Hashmi HA, Khan MS, Tanveer A. Prevalence of *Lymnaea* snails in Lahore district an their radication by a molluscicide copper sulphate. Punjab University J of Zool 1996;11:1-6.
- 103.- Coyle TJ. Liver Fluke in Uganda. Bulletin of Epizootic Diseases in Africa, 1956:4.
- 104.- Hammond JA. Observation in Fascioliasis in Tanganyika. Bulletin Epizoot Dis Afr 1965; 13:55-65.
- 105.- Van Eeden JA, Brown DG. Colonization of fresh waters in the Republic of South Africa by *Lymnaea columella* Say (Mollusca: Gastropoda). Nature London, 1966:210.
- 106.- Boray JC, McMichael DF. Identity of the Australian lymnaeid snail host of *Fasciola hepatica* L. and its reponse to the environment. Aust J Mar Freshwater Res, 1961:12.
- 107.- Boray JC. Studies on the ecology of *Lymnaea tomentosa*, the intermediate host of *Fasciola hepatica*. I. History geographical distribution and environment. Aust J

Zool, 1964:12.

- 108.- Lynch JJ. The ecology of *Lymnaea tomentosa* (Pfeiffer, 1895) in South Australia. Aust J Zoo, 1965:13.
- 109.- Brudson RV. Liver fluke *Fasciola hepatica* in sheep and cattle in New Zealand and its control N Z Vet J, 1967:15.
- 110.- Boray JC. Experimental fascioliasis in Australia. Adv in Parasitol 1969; 7:95-140.
- 111.- Pullan NB. The first report in New Zealand of *Lymnaea columella* Say (Mollusca: Gastropoda) an intermediate host of liver fluke *Fasciola hepatica* L. N Z Vet J, 1969:20.
- 112.- Climo EM, Pullan NB. A taxonomic review of the family Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda) in New Zealand J R Soc N Z, 1972:2.
- 113.- De Chaneet G. *Lymnaea columella* in Western Australia. Proc Aust Vet Assoc. 54 th Annual Conference 1977.
- 114.- Sinitsin DF. Redias and cercariae of *Fasciola hepatica* found in water snails. J Parasitol, 1929: 15.
- 115.- Shaw JN, Simms BT. Studies in fascioliasis in Oregon sheep and goats. Oregon Agric Exper Station Bull, 1930: 266.
- 116- Shaw JN. Some notes on liver fluke investigations. J Amer Vet Med Assn, 1931: 31.
- 117.- Krull WH. A new snail and rabbit host of *Fasciola hepatica*. Linn J Parasitol, 1933: 20.
- 118.- Tagle VI. Observaciones sobre evolución de *Fasciola hepatica* in India. Proc Indian Sci Congr, 1944:111.
- 119.- Brenes RR, Muñoz G, Arroyo G. Delgado E. Estudio preliminar sobre *Fasciola*

- hepatica* en Costa Rica. Rev Biol Trop, 1968:15.
- 120.- Wilson G, Samson KS. The incidence of fascioliasis of sheep and cattle in the South West with observations on the snail vectors. Proc Helminth Soc Wash 1971;38:52-56.
- 121.- Lang BZ. Snail and mammalian hosts for *Fasciola hepatica* in Eastern Washington. J Parasitol, 1977:63.
- 122.- Whitney H, Villanueva A, Frechette JL. (Letter to the editor). Can Vet J, 1981:22-334.
- 123.- Diaz LE, Archundia OJ. Estudio Epizootiológico de la fascioliasis bovina, tendiente al control químico estratégico en el Valle de Toluca. 3ª Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, 1982 México. México (DF): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria A C 1982; 3: 28-29.
- 124.- Nájera FRA. Fascioliasis Zoonosis Parasitarias. Fac Med Vet y Zoot UNAM 1982; 237-242.
- 125.- Cruz RA, Malek E. Suitability of six limnaeid snails for infection with *Fasciola hepatica*. Vet Parasitol 1987;24:203-210.
- 126.- Cruz RA. Ciclo evolutivo. Fascioliasis. Vol. Conmemorativo centenario del Descubrimiento del ciclo de *Fasciola hepatica*. Inst. Nal. Inv. For. y Agrop. (INIFAP). 1986.
- 127.-Paraense W L. *Lymnaea columella* two new Brazilian localities in the states of Amazonas and Bahia. Mem Inst Oswaldo Cruz 1986;77(2):121-123.

- 128.- Pérez V, Moreno A. *Physa cubensis* (Mollusca) un nuevo hospedero intermediario de *Fasciola hepatica* (Trematoda) nota previa. Memorias Sociedad Cubana en Historias Naturales 1991;12:12-15.
- 129.- Mattos MJT, de Ueno H, Goncalves PC, Almeida JEM de; De Mattos MJT, De Almeida JEM. Seasonal occurrence and bioecology of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeidae) in its natural habitat in rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Medicina Veterinaria 1997;19:248-252.
- 130.- Bargues MD, Mangold AJ, Muñoz AC, Pointier JP, Mas CS. Ssu rDNA characterization of lymnaeid snails transmitting human fasciolosis in South and Central America. J Parasitol 1997;83: 6,1086-1092.
- 131.- Claxton JR, Sutherst J, Ortiz P, Clarkson MJ. The effect of cyclic temperatures on the growth of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea viatrix*. Vet J 1999;157:2,166-171.
- 132.- Abilio FJP, Watanabe T. Occurrence of *Lymnaea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae), first intermediate host of *Fasciola hepatica*, state of Paraíba, Brazil. Revista de Saude Pública 1998, 32:2,184-185.
- 133.- Pile E, Coelho B, Santos JAA. Histopathological changes in *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Fasciolidae), caused by *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. Parasitologia al día 1998;22:105-107.
- 134.- Liang YS, Schalie H v. d. Cultivating *Fossaria bulimoides* (Lea), a snail host of the liver *Fasciola hepatica*, Museum of Zoology, The University of Michigan Ann Arbor, Michigan 48104, U.S.A. Malacological Review. 1975;8:123.

- 135.- Sánchez R, Perera G, Sánchez J. Cultivo de *Fossaria cubensis* (Pfeiffer) (Pulmonata: Lymnaeidae) hospedero intermediario de *Fasciola hepatica* (Linnaeus) en Cuba. *Revista de Medicina Tropical* 1995;47:71-73.
- 136- Rolfe PF, Boray JC, Nichols P, Collins GH.. Epidemiology of Paramphistomosis in cattle. *International J Parasitol* 1991;21:813-819.
- 137.- Johnson AR, Wilchen WD, Applied Multivariate Statistical Analysis. Fourth Edition Prentice Hall 1998.
- 138.- Escudero CJL, García TCG, Ibarra VOF. Viabilidad e infectividad de la metacercaria de *Fasciola hepatica* obtenida de limneidos infectados a diferentes edades. Reunión de Investigación Pecuaria en México. 1985.
- 139.- Shimada AS. Fundamentos de nutrición animal comparativa. Editado por Consultores de Producción Animal, S. C. 1983:12-32.
- 140.- Wilson RA, Pullin R, Denison J. An Investigation of the mechanism of infección by digenetic trematodes: the penetration of miracidium of *Fasciola hepatica* into its snail host *Lymnaea truncatula*. *Parasitology* 1971;63:491-506.
- 141.- Quiroz RH. Epidemiología en: Fasciolosis. Vol Conmemorativo Centenario del descubrimiento del Ciclo de *Fasciola hepatica*. Inst. Nal de Inv For y Agrop. (INIFAP) 1986.
- 142.- Roberts EW. Studies on the life-cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its snail host, *Lymnaea (Galba) truncatula* (Muller), in the field and under controlled conditions in the laboratory. *Ann Trop Med Parasit.* 1950;44:187-206.
- 143.- Sánchez PM. Susceptibilidad a *Fasciola hepatica* de 3 especies de caracoles limneidos a diferentes edades con dos métodos distintos de infección. Reunión de

Investigación Pecuaria en México 1985.

- 144.- Mauri M, Mitterpak J. Dinámica de invasión de *Lymnaea cubensis* en formas larvarias de *Fasciola hepatica* en condiciones naturales. II Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias La Habana 1976.
- 145- Linch JN. Métodos de laboratorio. Ed. Interamericana. México D. F. 1985.
- 146- Kendall SB, Ollerenshaw CB. The effect of nutrition on the growth of *Fasciola hepatica* in its snail host. Proc Nutr Soc 1963;22:41-46.
- 147.- Boray JC. Standardization of techniques for pathological and anthelmintic studies with *Fasciola* spp. Proceedings of the First International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Hanover. 34. 1963.
- 148.- Escudero CJL, Flores CR. Evaluación de la susceptibilidad de tres especies de caracoles limneidos con miracidios de *Fasciola hepatica* de 2 orígenes. Reunión de Investigación Pecuaria en México 1984:250.
- 149.- Dawes B, Hughes, DL. Fascioliasis: The invasive stages of *Fasciola hepatica* in mammalian hosts. Advances in Parasitology. 1964; 2:97-168.
- 150.- . Boray JC, Enigk K. Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* metacercarias. Z Trop Parasitol 1964; 3:15.
- 151.- Anaya DG, María R, Miranda HD, Pérez PA., De Paz VO. Determinación de un modelo biológico en condiciones de laboratorio para establecer el ciclo de vida de *Fasciola hepatica*. V Reunión Anual Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, 1984 México. México (DF): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A. C. 1984:97.

- 152.- Anónimo: Manual of Veterinary Laboratory Techniques. Ed. Ministry of Agriculture. Fisheries and Food. 1986.
- 153.- Lang BZ. Host parasitic relationships of *Fasciola hepatica* in white mouse. II Studies on required immunity, J Parasit 1967; 53:21-30.