# CAPÍTULO XV

# Fasciola Hepatica: ASPECTOS ECO-EPIDEMIOLÓGICOS DE INTERÉS PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE CONTROL

- I INTRODUCCIÓN
- II ASPECTOS DE IMPORTANCIA A CONSIDERAR EN ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS
- III DIAGNÓSTICO
- IV QUIMIOPROFILAXIA DE LA FASCIOLIASIS
  - V HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS DE LA F. HEPATICA EN VENEZUELA
- VI LITERATURA CITADA

Gustavo A. Morales Luz A. Pino de Morales

# I. INTRODUCCIÓN

Las pérdidas económicas ocasionadas por *Fasciola hepatica*, como agente causal de la Distomatosis hepática o Fascioliasis son elevadas, aunque de dificil precisión y se deben básicamente al decomiso de hígados a nivel de mataderos (Tagle, 1970; Euzeby, 1971; Talegón, 1974; Morales y col., 1985), a la disminución de la producción láctea (Talegón, 1974; Euzeby, 1971) y de la eficiencia de la conversión de los alimentos, ya que los animales afectados requieren de un mayor consumo de alimentos para alcanzar un peso similar al de los no parasitados (Hope y col., 1972; Bendezú y Landa, 1973; Talegón, 1974; Reid y col., 1972). Además por su carácter de zoonosis, es también de interés en salud pública (Brenes y col., 1968; Rondelaud, 1980; Atias y Pesse, 1965).

En fin, es de resaltar que la depauperación orgánica de los animales distomatósicos los hace más sensibles a las enfermedades infecto-contagiosas y las vacunaciones no confieren a dichos animales un grado suficiente de inmunidad (Talegón, 1974).

### 1. Distribución de F. hepatica en Venezuela

La distribución de este parásito en nuestro país es bastante amplia. Ha sido señalada en los estados andinos (Gallo y Vogelsan, 1946), en el Estado Mérida (Vivas, 1976; Betancourt, 1978), en diferentes pisos altitudinales del Estado Trujillo (Morales 1980; Morales y Pino, 1981; 1983; Morales y col., 1985); en la región centro-occidental: estados Lara, Yaracuy, Falcón (Meléndez y col., 1983) y Portuguesa (Meléndez y col., 1983; Moreno y col., 1982) y en el Estado Zulia (Bohórquez y Chirinos 1973; Pascal y col., 1977; Chirinos y Hómez, 1989).

# II. ASPECTOS DE IMPORTANCIA A CONSIDERAR EN ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS

# A) Abortos

En nuestro país la distomatosis hepática ha sido señalada como responsable de abortos en bovinos infestados bajo condiciones naturales (Contreras, 1976), lo cual había sido demostrado en estudios experimentales con ovinos,

en los cuales se evidenció que la infestación por *F. hepatica* puede ocasionar abortos y el nacimiento de corderos de bajo peso o muertos (Sinclair, 1972).

# B) Infestación prenatal

La infestación prenatal de becerros por *F. hepatica* en Venezuela fue reportada por Pino, Morales y Perdomo (1992), quienes encontraron huevos del trematodo, en becerros con menos de 8 semanas de nacidos, los cuales eran hijos de vacas positivas a *F. hepatica*.

Según Euzeby (1971), la infestación prenatal ocurre durante la migración de las jóvenes duelas en la madre recién infestada, produciéndose posteriormente la invasión del feto por vía sanguínea. Mientras que Rees y col. (1975) proponen como vías de acceso posibles, la circulatoria o la penetración directa en el útero a partir de la cavidad abdominal, con lo cual coincide Pecheur (1984).

Desde el punto de vista epidemiológico, la infestación prenatal de los becerros con *F. hepatica* debe ser considerada al realizar programas de control, debido a que la misma contribuye al mantenimiento de los focos de infección de los moluscos hospedadores intermediarios en zonas endémicas, dado el elevado número de huevos eliminados en las heces de estos animales (Pecheur, 1984; Pino, Morales y Perdomo, 1992).

# C) Disposición espacial de F. hepatica

C.1) En los bovinos hospedadores definitivos: El establecimiento del tipo de disposición espacial de *F. hepatica* en estos hospedadores, requirió del aislamiento de los parásitos de los hígados decomisados por distomatósicos a nivel de mataderos. Considerándose el número total de animales sacrificados en el día de la realización del muestreo, además de la procedencia común de dichos animales (Morales y col., 1985).

Nuestros resultados evidenciaron que la disposición de *F. hepatica*, en el seno de la población hospedadora, es de tipo contagiosa, como lo determinan los bajos valores del Coeficiente K (Southwood, 1975; Cabaret, 1982). Estos resultados, así como las estadísticas epidemiológicas básicas, son presentados en el Cuadro 1.

Para Anderson y Gordon (1982), la agregación de los parásitos en ciertos individuos de la población de hospedadores, es dependiente de diversos factores, como la heterogeneidad en la susceptibilidad de los hospedadores a la infestación, la habilidad del hospedador para matar al parásito,

la vitalidad y la capacidad infestante de las metacercarias. Sin dejar de considerar, el tipo de manejo del rebaño y de los potreros, lo cual condicionaría además de la posibilidad de contacto entre las formas infestantes de *F. hepatica* y el hospedador definitivo, el desarrollo y la colonización de nuevos habitats por parte del hospedador intermediario, con lo cual se garantiza el mantenimiento de la endemia.

CUADRO 1. VALORES DEL COEFICIENTE DE AGREGACION (K) Y
ESTADISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE F. hepatica EN BOVINOS
PROCEDENTES DEL ESTADO TRUJILLO, SACRIFICADOS EN EL
MATADERO INDUSTRIAL DE JIMENEZ EN EL AÑO 1984

Meses	N	n	A	Α'	Po(%)	K
Febrero	228	5	0,08 ± 0,06	9,5	0 4	0,008
Marzo	132	3	$0,523 \pm 0,40$	23,0	2,0	0.017
Abril	186	5	0,166 ± 0,098	6,2	2,6	0,017
Mayo	249	5	$0,514 \pm 0,225$	14,2	6,7	0,022
Junio	120	2	0.541 ± 0,35	21.66	2,5	0.021
Julio	497	4	0,0503 ± 0,026	4,17	1.20	0,009
Septiembre	370	4	1,57 ± 0,59	64,78	2,43	0,019
Octubre	674	4	0,245 ± 0,033	11,78	2,07	0,126
Diciembre	110	1	0.291 ± 0,198	10,66	2,73	0,021

N = Número de animales sacrificados

n = Número de visitas al matadero en cada mes

A = Abundancia

A' = Intensidad promedio

Po = Prevalencia

K = Coefficiente de agregación

El conocimiento de este tipo de información es importante, ya que nos indica que solo pocos individuos albergan cargas elevadas de F. hepatica y

el resto o tienen bajas cargas o están negativos, lo cual es de indudable interés en la elaboración de programas de control.

C.2) Los Huevos de *F. hepatica* en la materia fecal: para establecer el tipo de distribución estadística de los datos empleamos el Índice de Morisita, con su correspondiente prueba de F (Brower y Zar, 1977; Morales y Pino, 1987). Mientras que para determinar el grado de agregación, calculamos, al igual que en el caso anterior, el Coeficiente de Agregación "K" y el Coeficiente de Agregación Común "Kc" (Southwood, 1975; Morales y Pino, 1987). Los resultados correspondientes son mostrados en el Cuadro 2, en el cual constatamos que la distribución del número de huevos por cada 6 gramos de materia fecal examinada, se corresponde con la Ley Binomial Negativa, ya que en todos los casos, el valor del Índice de Morisita (Is), fue superior a 1 y la prueba de Fo, resultó altamente significativa.

CUADRO 2. VALORES DE LA MEDIA ARITMETICA (X), INTERVALO DE CONFIANZA (IC), INDICE LA LA DISPERSION DE MORISITA (Is) Y COEFICIENTES DE AGREGACION DE LOS HUEVOS DE Fasciola hepatica OBTENIDOS CON CADA UNA DE LA TECNICAS (k) Y EN FORMA GLOBAL (kc)

Valores	Happich-Boray clásica	Modificación propuesta	Variante de campo
x ± 1C Is	2,98 ± 0,56 2,32 0,745	3,48 ± 1,08 5,21 0,234	2,02 ± 0,40 2,33 0,745
kc		1,07	

En cuanto a la disposición espacial de los huevos en la materia fecal, resultó ser de tipo contagiosa o agregativa (K y Kc 8), lo cual es indicativo de que en el rebaño únicamente pocos hospedadores están involucrados o eran responsables de la contaminación del medio ambiente, en niveles elevados. Elemento que reviste tambien un gran valor para el desarrollo de estratégias de control.

D) Establecimiento de los meses de mayor incidencia de *F. hepatica* en los rebaños. La información de mataderos, como criterio para el establecimiento de los meses picos de la infestación tiene un valor limitado, salvo si se realiza la colecta y el discernimiento entre formas juveniles y adultas. Para esto, debe

establecerse como número válido de duelas en cada animal por mes, el correspondiente a los parásitos inmaduros y jóvenes, utilizando los criterios propuestos por Taylor (1965).

Otro metodo de gran validéz sería el empleo de animales trazadores, aunque tiene la limitante de su costo elevado.

Mediante técnicas coproscópicas tampoco pueden establecerse los meses picos de infestación, ya que los resultados de las mismas son sumamente variables y dependientes de múltiples factores, tales como, variación horaria en la postura de huevos, edad del hospedador, antiguedad de la infestación, número de parásitos presentes, además de que no puede ser establecida ninguna relación entre el número de huevos presentes en las heces y el número de parásitos adultos presentes en el hospedador (Euzeby, 1971).

Un método más veraz y con carácter predictivo para establecer los meses picos del riesgo potencial de infestación de los bovinos, es el que explicaremos mas adelante en base a colectas periódicas de los caracoles hospedadores intermediarios de *F. hepatica*.

# III. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico en base a la sintomatología clínica en la fascioliasis aguda es muy difícil: en estos casos lo mejor es recurrir a la necropsia y proceder a la búsqueda de los parásitos jóvenes en el parenquima hepático. Mientras que en la distomatosis crónica, puede ser clínico, de laboratorio, en base a coproscopía y parasitológico mediante el aislamiento e identificación de *F. hepatica*.

Sin embargo, en vista de que en el medio tropical el poliparasitismo de los animales es la regla, es indiscutible que un tratamiento adecuado y una profilaxia eficaz, reposan en un correcto diagnóstico, por consiguiente, se hace necesario recurrir a los exámenes de laboratorio (Henriksen, 1974) y el diagnóstico clínico debe ser confirmado a este nivel. Mas aún si realizamos estudios epidemiológicos, en los cuales los resultados aportados por el laboratorio, son de primordial importancia.

A continuación haremos una breve referencia de los metodos diagnósticos de mayor utilidad en la distomatosis:

# A) Diagnóstico Postmortem

Consiste en el aislamiento e identificación de las *F. hepatica* adultas a nivel de los conductos hepáticos y de las formas juveniles en el parénquima hepático, no descartándose la posibilidad del hallazgo de este trematode en otros órganos, lo cual es raro, pero posible (distomas erráticos).

La técnica de disección del hígado y del examen de la vesícula biliar para la búsqueda de las formas adultas y juveniles de *F. hepatica*, es descrita en detalle por Morales y Pino (1977) y por Parra y Vizcaíno (1979).

# B) Diagnóstico Antemortem

## B.1) Inmunodiagnóstico

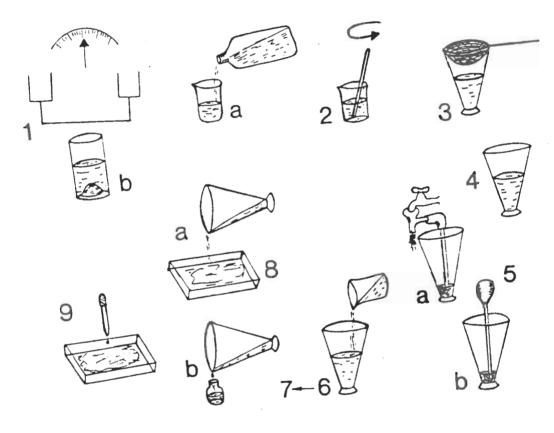
Técnica de Elisa: es un procedimiento de ensayo inmunoenzimático de tipo heterogéneo, en la cual la existencia de reacción inmunológica se demuestra y se cuantifica, midiendo espectrofotónicamente, la cantidad de producto enzimático resultante (Yarzabal, Petralanda y Arango, 1985). El uso de este método de inmunodiagnóstico en fasciolasis hepática es de gran interés debido a estar basado en la detección de anticuerpos específicos y a que permite identificar la infestación, semanas antes de que los parásitos alcancen la madurez sexual. Sobre la utilización de esta técnica en el diagnóstico de la distomatosis tanto en bovinos como en animales de laboratorio existe abundante bibliografía (Farel y col., 1981; Hanna, 1980; Hillyer y Santiago, 1979).

# B.2) Diagnostico Coproscópico

El coprodiagnóstico de *F. hepatica* requiere de una técnica que reúna como mínimo las siguientes bondades: ser sencilla, sensible, que pueda ser implementada en un laboratorio con el equipamiento mínimo requerido en helmintología y que permita en forma rápida, el diagnóstico diferencial entre los huevos de *F. hepatica* y los de paranfistomidos. Ya que ambos parásitos se encuentran presentes con elevada frecuencia, en forma simultánea en los bovinos (Henriksen, 1974; De León y col., 1972; Pino y Morales, 1982a; Morales, Pino y Rodríguez, 1989).

La técnica coproscópica utilizada en nuestro laboratorio combina las características básicas de los métodos de Dennis, Stone y Swanson (1954) y

de Happich y Boray (1969). La misma proporciona un rendimiento similar a la de Happich-Boray en el diagnóstico de los huevos de *F. hepatica*, pero superior en lo que respecta a detección de huevos de paranfistomidos, lo cual le confiere importancia en estudios epidemiológicos. Detalles sobre la ejecución de esta técnica son suministrados por Morales, Pino y Rodríguez (1989) y el esquema de los pasos a seguir aparece en la Figura 1.



- 1. Procedimiento de la técnica de Happich-Boray modificada (a) y de la variante para condiciones de campo (b). 1.a) Pesada de la muestra (6 grs.) y adición de la solución detergente y uno superior, que indica el volumen ocupado por los 6 gramos de materia fecal.
- 2) Agitación de la mezcla. 3) Tamizado 4) Sedimentación (tres minutos) 5) Eliminación del sobrenadante: a) Mediante el uso de una trompa de vacio; b) Mediante el uso de una perilla de succión
- Adición de solución detergente hasta completar los 30 mls.
- 7) Repetición por dos veces de los pasos 4, 5 y 6.
- 8a) Disposición del sedimento en la cámara de conteo ó b) en un frasquito con tapa para su traslado al laboratorio.
- 9) Agregado d una o dos gotas d solución de Azul de Metileno al 1% ( Morales, Pino y rodríguez, 1989) FIGURA 1

# IV. QUIMIOPROFILAXIA DE LA FASCIOLIASIS

Boray (1969), propuso un plan de lucha contra esta parasitosis, basado en la combinación de la rotación de potreros y el uso de antihelmínticos, que consiste en lo siguiente: en primer lugar se dividen los potreros en infestados y no infestados, luego se establece la duración que debe tener el pastoreo en cada uno de ellos. El período de pastoreo en los potreros no infestados debe ser de al menos 12 semanas y el tratamiento antihelmíntico, se aplica 4 semanas antes del traslado a los potreros infestados. En estos últimos, el período de pastoreo no será jamás superior a las 8 semanas, que es el tiempo promedio de evolución de las fases larvarias del parásito antes de alcanzar el estadío cercaria en el interior del molusco.

La quimioprofilaxia reposa en el empleo regular de drogas que sean altamente eficientes tanto contra las formas larvarias como adultas de F. hepatica.

Ha sido planteado el uso estratégico de fluquicidas en animales infestados, antes de que los parásitos alcancen el estado adulto y comiencen a producir huevos; por lo que al usar una droga efectiva contra todos los rangos de edad de *F. hepatica*, el intervalo entre tratamientos puede ser igual a la duración del período prepatente, en este caso es en promedio de 8 semanas, lográndose de esta manera la reducción drástica de la contaminación del medio ambiente con huevos de *F. hepatica* (Boray, Jackson y Strong, 1989; Wehrle y Richards, 1989).

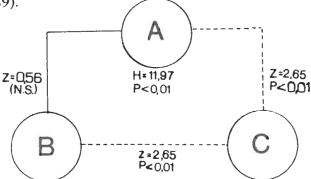
Actualmente, esto se hace posible, dada la existencia en el mercado de drogas como el Triclabendazole (Benzimidazol-2-Thiols Halogenado), el cual es un agente quimioterápico sintético que actúa contra todos los estadíos de *F. hepaticá* en el hospedador definitivo (Smeall y Hall, 1983). En efecto este antihelmíntico es eficaz contra las formas inmaduras tempranas (entre 0 y 1 semana), contra las jóvenes fasciolas ubicadas en el parénquima hepático (entre 1 y 8 semanas) y contra las adultas localizadas a nivel de los canalículos biliares (Wherle y Richards, 1989; Boray, Jackson y Strong, 1989). Sin embargo, Prichard (1983) considera que su eficacia decrece cuando se utiliza en bovinos con parásitos de 4 a 6 semanas de edad, retenidos en el tejido hepático fibroso.

Es importante resaltar que en vista de la presencia de residuos de Triclabendazole y de sus metabolitos en tejidos (músculos, hígado, riñón y grasa) y en la leche, este producto debe ser suministrado en vacas que serán sometidas a secado, combinando el tratamiento, con la aplicación de otras

medidas de control a nivel del hospedador intermediario. Y en caso de su uso en bovinos de carne, estos no deben enviarse al matadero antes de los 14 días postratamiento (Robinson, 1989; Richards, 1986).

El Triclabendazol presenta la ventaja de que su eficacia no se ve afectada ni por la vía de administración, ni por su uso simultáneo con otros nematocidas como el Abendazole, Fenbendazole, Oxfendazole, Naphthalophos, Morantel, Ivermectina o el Levamisole.

Nuestra experiencia con la combinación de este último antihelmíntico con el Triclabendazol (Morales, Pino y Perdomo, En prensa) evidencia, que la eficacia de cada uno de estos fármacos se conserva (Fig. 2) y que tal como lo demostró Bowen (1988), no se presenta entre ambos ni sinergismo ni antagonismo. Pero en vista de la probada eficacia antihelmíntica del Levamisole (Campbell, 1986; Block, McDonald y Jackson, 1987) y de la excelente actividad fasciolicida del Triclabendazole, es indudable que esta combinación es de suma importancia en nuestro medio, en el cual el poliparasitismo es la regla (Morales, 1989). Pero siempre, como parte integrante de programas de control de las helmintiasis y no como única vía para resolver el problema del parasitismo, pues el uso indiscriminado de esos productos, sin considerar la información aportada por estudios eco-epidemiológicos, puede traer como consecuencia la aparición de cepas de parásitos resistentes (Morales, 1989).



Comparación entre las cantidades de F. Hepatica recuperadas de los bovinos del ensayo de evaluación de la eficacia del Triclabendazole y Triclabendazole + Levamisole.

A: Tratados con.

B: tratados con Triclabendazole + Levamisole

C: Controles (no tratados)

H: Estadístico de Kruskal-Wallis

Z: Aproximación normal con corrección de continuidad del estadístico U de Mann y witney.

P: Nivel de probabilidad.

N.S.: No significativo.

# V. HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS DE F. HEPATICA EN VENEZUELA

En nuestro país han sido implicadas dos especies como hospedadores intermediarios de *F. hepatica*: *Lymnaea cubensis* Pfeiffer 1839 y *L. columella* Say 1817.

La presencia de *L. cubensis* en Venezuela ha sido citada a partir del año 1890 por Von Martens (1890-1910 1). Este autor asi como Lutz (1928), Ramírez y Vergani (1949), Briceño-Rossi (1950; Vergani (1955) señala su presencia en la zona central (Distrito Federal y Estados Aragua y Miranda), mientras que Vergani (1955), Bohorquez y Chirinos (1973) y Morales y Pino (1981), lo hacen en la zona occidental del país (estados Táchira, Zulia y Trujillo).

En lo que respecta a *L. columella*, existen sólo dos hallazgos a mencionar en Venezuela, el de Malek y Chrosciechowski (1964) en el Estado Aragua y el de Martínez y Miranda (1968), en el Distrito Federal y Estado Miranda.

Desde el punto de vista sistemático, estos caracoles están ubicados en el Phylum Mollusca (Latín molluscus, blando), Clase Gastropoda (Griego gaster, estómago y podus, pie), Subclase Pulmonata (Griego pulmo, pulmón), Orden Basommatophora (Griego basis, base, omma, ojo y pherein, poseer) Familia Lymnaeidae (Griego limnaion, estanque) y Género *Lymnaea* Lamark 1799.

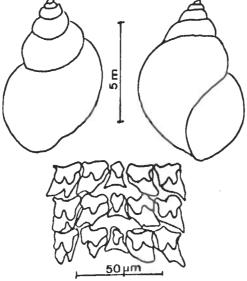
Criterios básicos para la identificación de L. cubensis y L. columella

Nos referiremos básicamente a aspectos conquiológios y radulares, los cuales en el presente caso aportan suficientes criterios de diferenciación interespecífica, además agregaremos ciertos detalles sobre el aspecto general

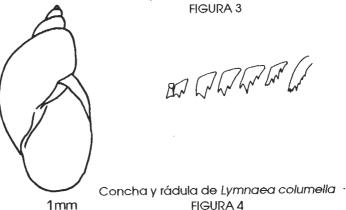
de la region cefalo-podal y de los huevos, ya que nos aportan otras claves directas de identificación.

# Criterios conquiológicos

Los limneidos tienen en general una concha helicoidal, ovalada, oblonga, de contornos cónicos; la cual se ha enrollado en el plano vertical y hacia la derecha durante su desarrollo ontogénico, siendo por lo tanto dextrógira; presentan peristoma simple y carecen de opérculo (ver Figs. 3 y 4) (Malek y Cheng, 1974).



Concha y Rádula de Lymnaea cubensis. FIGURA 3



Entre *L. cubensis* y *L. columella*, encontramos diferencias de tamaño, tal como vemos en los valores encontrados por Pino y col. (1986), en condiciones de laboratorio: talla promedio del recién nacido, 0,63 mm y 0,85 mm y talla máxima promedio del adulto, 9 mm y 20 mm, para *L. cubensis* y *L. columella* respectivamente.

Así mismo encontramos diferencias en las proporciones de la concha, ya que la longitud de la abertura es de aproximadamente 2/3 de la longitud total de la concha en *L. columella* mientras que la misma es de aproximadamente 1/2 en *L. cubensis* (ver Figs. 3 y 4). Es decir, que la abertura es relativamente mas grande en *L. columella*, que en *L. cubensis*. Esta última especie presenta además la primera espira mas globulosa que *L. columella*, lo cual le confiere la apariencia de tener "hombros" prominentes (Martínez y Miranda, 1968).

# Región céfalo-podal:

Esta zona es altamente pigmentada para ambos limneídos cuando están en condiciones naturales, ya que en condiciones de laboratorio ésta característica suele perderse.

Los tentáculos son aplanados y triangulares, con los ojos en el ángulo interno de la base de los mismos.

Es de hacer notar que la parte posterior de esta región no sobresale de la concha durante los desplazamientos del animal, en ninguna de estas dos especies.

#### Huevos

Estos caracoles son ovíparos y depositan sus huevos envueltos en una masa gelatinosa. La forma de esta última y el **n**úmero de huevos que contiene, ha sido utilizada como criterio de diferenciación taxonómica (Malek y Cheng, 1974).

En L. columella, la masa ovígera tiene forma alargada y es de consistencia firme; contiene en promedio 30 huevos de 0,77 X 0,65 mm; la duración del desarrollo embrionario es de 9 días en promedio y la producción total promedio de masa de huevos durante la vida adulta es de 77 (Rodríguez y col., 1987).

En *L. cubensis*, las masas ovígeras tienen forma mas bien redondeada y consistencia menos firme y contienen en promedio 13 huevos de 0,69 X 0,58 mm. La duración promedio del desarrollo embrionario es de 8 días y

producen un promedio de 80 masas de huevos durante su vida adulta (Morales y col., 1985).

#### Rádula

La rádula es una cinta quitinosa formada por dentículos, la cual es utilizada por los gasterópodos para su alimentación. El número, la forma y el tamaño de dichos dentículos tiene importancia taxonómica (Malek y Cheng, 1974).

En L. columella el diente central es unicúspide y los primeros laterales son tricúspides (Harry y Hubendick, 1964) (ver Fig. 4), mientras que en L. cubensis, el central es unicúspide y los primeros laterales son bicúspides (Harry y Hubendick, 1964; Morales, Pino y Angulo, 1987) (ver Figura 3).

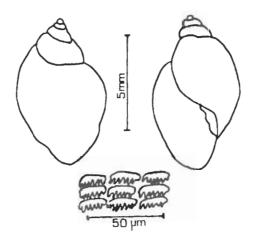
# Diferenciación entre L. cubensis y Physa cubensis

Tomando en consideración que la especie *Physa cubensis* se encuentra frecuentemente asociada a *L. cubensis* en condiciones naturales (Morales, Pino y Angulo, 1987) y que el relativo parecido entre ambos caracoles, en cuanto a color y talla podría confundir a un colector no experimentado presentamos a continuación una serie de caracteres diferenciales entre ambas especies. Lo cual consideramos reviste importancia debido a que *P. cubensis*, no actúa como hospedador intermediario de *F. hepatica* ni en condiciones naturales ni experimentales (Morales, Pino y Angulo, 1987).

En primer lugar, debemos considerar la ubicación de ambos a nivel de campo, ya que *L. cubensis*, es de hábitos anfibios mientras que *P. cubensis* es acuática. Desde el punto de vista de la concha, la primera es dextrógira y la segunda levógira (Fig. 5) y la coloración es de un marrón mucho mas oscuro, casi negro en *P. cubensis*.

En lo que respecta a la región cefalo-podal, los tentáculos de *P. cubensis*, son alargados y cilíndricos. La parte posterior del pie es muy aguda y sobresale netamente de la concha cuando el caracol se desplaza.

Finalmente, tenemos que la rádula presenta en *P. cubensis* dientes centrales y laterales multicúspides, lo cual le confiere forma de rastrillo (Malek y Cheng, 1974; Morales, Pino y Angulo, 1987) (ver Fig. 5) a diferencia de la ya descrita de *L. cubensis*.



Concha y rádula de Physa cubensis Figura 5

Características de los hábitats de L. cubensis

# Altitud:

Los hábitats de esta especie estudiados en el Estado Trujillo se encuentran ubicados entre los 1.200 m.s.n.m. y los 1.287 m.s.n.m. (Pino y Morales, 1982b). Sin embargo, es importante señalar que en el mismo Estado hemos detectado la presencia de bovinos infestados por *F. hepatica* en localidades ubicadas entre los 3 y los 2.160 m.s.n.m. (Morales y col., 1985) y en el Estado Zulia han sido localizados hábitats de *L. cubensis* en la localidad de Carrasquero, Distrito Mara (Bohorquez y Chirinos, 1973). En esta misma localidad, en la finca Don Bosco, a 19 m.s.n.m., nosotros también hemos detectado *L. cubensis*, infetadas por *F. hepatica*, en las visitas de las prácticas Parasitología del postgrado de Medicina Veterinaria Preventiva de la Universidad del Zulia.

Todo lo cual nos permite concluir que la altitud no sería una limitante para la presencia de este hospedador intermediario de F. hepatica, en diversas regiones del país.

# **Temperatura**

En nuestro medio está inversamente correlacionada con la altitud (Alvarado y Mendoza, 1974), a mayor altitud menos temperatura. Por lo tanto, dados los amplios rangos altitudinales en los que se ha encontrado *L*.

cubensis, consideramos que no sería un factor condicionante de su distribución en nuestro país.

# Agua

Este es un elemento muy importante para estos caracoles dada su condición de anfibios, por lo que ha sido señalada por Taylor (1965), como uno de los cuatro factores que condicionan la presencia de *Lymnaea truncatula*, también anfibia y hospedadora de *F. hepatica*, en Europa. Sin embargo, debemos tener en cuenta la amplia capacidad de adaptación de estos limneidos, así como su capacidad de entrar en diapausa hasta por un año, cuando las condiciones se hagan nuevamente favorables (Leimbacher, 1975). En efecto, en condiciones de laboratorio Vergani (1955) demostró en *L. cubensis* resistencia a vivir en ausencia de agua cerca de ocho meses.

En todo caso, consideramos que para detectar zonas distomatósicas, mas importante que la información acerca de la pluviometría de la localidad, es detectar la presencia de humedad en el microambiente. Así vemos que en el Estado Trujillo, los hábitats estudiados, estaban ubicados en bordes de acequias, en márgenes de riachuelos de corriente lenta y en zonas de manantial.

Mientras que en el Estado Zulia los hábitats hasta ahora estudiados, se encuentran en fincas de explotación pecuaria, situadas en las márgenes de los ríos Limón, Guasare y Socuy, caracterizadas por tener tierras bajas y planas, donde abundan las ciénagas y las lagunas (Bohórquez y Chirinos, 1973; Chirinos y Hómez, 1989).

En el Cuadro 3, podemos observar los resultados de los análisis de agua de los habitats de *L. cubensis*, estudiados en el Estado Trujillo.

	1:2	Can	iones	m	e It	mmhos em	Grados hidrotimétricos franceses
Hähitat	рН	Ca**	Mg <sup>↔</sup>	Na*	K*	$C.E. \times 10^{3}$	Dureza
Mendoza Fria	7.1	15,6	3,9	7,0	10,0	0.3	86,5
Boconó	7,2	8,8	4,2	3,3	0,9	0,4	64,6

#### Naturaleza del suelo

Es otro de los factores de suma importancia, que puede ser condicionante de la presencia de *L. cubensis* en una zona (Pino y Morales, 1982b). En efecto, los limneídos anfibios requieren de un suelo que retenga la humedad. En esto juega un papel muy importante la textura y la mas adecuada, según Taylor (1965), es la arcillosa.

Esta condición de retención de humedad tambien puede estar presente en suelos ricos en materia orgánica, ya que sus partículas, al ser coloidales como las de la arcilla (Moss, 1980) le confieren a los suelos esa característica (Pino y Morales, 1982).

Otro aspecto señalado por la bibliografía como importante para estos caracoles es la presencia de altos contenidos de Calcio en los suelos (Taylor, 1965; Euzeby, 1971), dados sus requerimientos para la formación de la concha. Sin embargo, los suelos de los hábitats estudiados en el Estado Trujillo (ver Cuadro 4) tenían un contenido mediano de Calcio, a pesar de que este fue el macroelemento dominante en todas las muestras (Pino y Morales, 1982).

Análisis de suelos ien el extracto 125

	1.2	Cattoney me It			, tuones me lt p			ppm	mmbos em	%			
	pH	Cu**	WR.,	NaH	к,	CO	HCO;	SO.	CT	NaCl	C E. × 10°	Materia orgánica	Feynna
Mendoza Fria	7,1	51,0	15,5	15,2	6,5	1	20	10	10	405	0,3	0,8	FA.a
Boconó	7,3	33,0	6,0	3,3	1,2	0	10	0	10	191	0.5	5,2	Arcilloso

C.E. Conductividad eléctrica. F.A.a. Franco Arcillo Arenosa.

#### Luz

La abundante entrada de los rayos solares, es también una condición importante para la presencia de *L. cubensis*, ya que los rayos ultravioleta presentes en los mismos, es indispensable para el crecimiento de microalgas cianoficeas y cloroficeas que le sirven de alimento (Taylor, 1965; Euzeby, 1971; Leimbacher, 1975). Por lo tanto, nunca encontraremos a estos limneidos en lugares de grandes árboles y de mucha sombra, sino mas bien en aquellos de vegetación baja y escasa (Taylor, 1965; Pino y Morales, 1982).

En el Cuadro 5, podemos ver una serie de plantas identificadas, procedentes de los hábitats estudiados en el Estado Trujillo; lo cual puede tener importancia para la caracterización de los mismos (Over, 1962) y si las usamos como indicadoras pueden hacer mas fácil la ardua tarea de ubicación de los criaderos de estos limneídos en condiciones naturales.

Familia	Nombre Cientifico	Nombre Vulgar
Polygonaceae	Polygonum hydropiperoides	Barbazco, Gualola
Plantaginaceae	Plantago major	Llantén
Gramineae	Echinochloa colonum	Arrocillo
Cyperaceae	Killinga brevifolia	Fosforito
• •	Eleocharis elegans	_
Cruciferae	Nasturtium officinale	Berro
Compositae	(Aun no identificados)	

Plantas identificadas en los hábitats de *L.cubensis* estudiados en el Estado trujillo (Venezuela)

CUADRO 5

Para finalizar, además de los factores ya considerados debemos agregar que estos limneídos prefieren sitios bien oxigenados donde no haya putrefacción. El aspecto general que pueden presentar estos hábitats puede ser visto en la Fig. 6.

Hábitats de *Lymnaea cubensis* FIGURA 6

# Cría de L. cubensis y L. columella en condiciones de laboratorio

La condición anfibia de estos caracoles, hace relativamente dificil su cría en el laboratorio. En nuestra experiencia personal, ensayamos diferentes métodos de acuerdo a lo señalado por la bibliografía (Schumacher, 1938; Taylor y Mosley, 19432)y sólo logramos éxito siguiendo el método de Gretillat (1967) con ciertas adaptaciones. El cual consiste en utilizar un recipiente tipo acuario, en cuyo fondo se coloca una capa de tierra, de unos 10 cms de espesor. Para facilitar la adaptación de los limneidos nosotros la traíamos del hábitat natural. Sobre la tierra se coloca el agua, hasta que alcance en el acuario una altura de unos 20 cms. Este nivel se garantiza sustituyendo periódicamente el agua evaporada.

El agua utilizada es preferiblemente traida del sitio de recolecta de los caracoles, o en su defecto se puede utilizar agua de lluvia o de manantial y en caso de que esto sea imposible podemos usar el agua que llega por las tuberías, pero dejándola en reposo por 48 horas para que se evapore el Cloro que contiene (Césari y Alarcón de Noya, 1987).

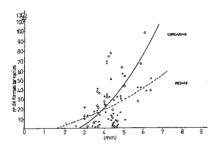
El agua de los acuarios debe ser cambiada cada mes o antes si es necesario. Para esto se debe tamizar el agua de los mismos usando un colador fino que retenga a los recién nacidos.

Así mismo debe garantizárseles una buena entrada de luz natural o artificial, alimentarlos con lechuga de hojas suaves, tipo criolla y cubrir el recipiente de cría con tela de tul fina, para evitar que los caracoles se salgan, sobre todo en las primeras etapas de adaptación, recién traidos del campo.

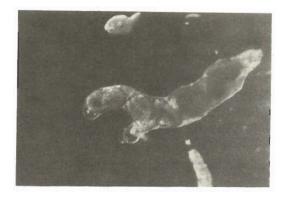
Otro aspecto importante, es el suministro de abundante aireación artificial a los criaderos, para retardar la putrefacción, lo cual es poco tolerado por estos caracoles (Taylor, 1965; Euzeby, 1971).

# ESTRATEGIA SEGUIDA POR LAS FORMAS LARVARIAS DE F. hepatica EN L. cubensis

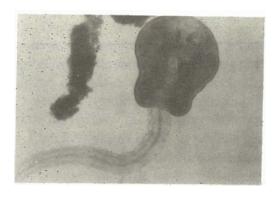
La Figura 7, nos muestra claramente la relación existente entre la talla de *L. cubensis* y el número de redias y de cercarias que la parasitan (Figs. 8 y 9), pues nos muestra que en los caracoles de tallas inferiores a los 4 mm



Relación entre la talla de *Lymnaea cubensis* y el número de redias y cercarias de Fasciola hepatica presentes en su hepato-páncreas. FIGURA 7



Redias de *Fasclola hepatica* FIGURA 8



Cercarias de *Fasciola hepatica* FIGURA 9

hay un predominio de la cantidad de redias sobre las de cercarias, a partir de esta talla la relación se hace inversa y observamos una clara dominancia del número de cercarias presentes. Esto tiene importantes implicaciones en la planificación de tratamientos para los hospedadores definitivos, debido a que la presencia de cercarias significa riesgo inminente de infestación de los pastizales y por ende de esos hospedadores.

La relación ya explicada, es constatada por la información que presentamos en los Cuadros 6 y 7, referidos a la estrategia que siguen las redias y las cercarias en especímenes *L. cubensis* de diferentes tamaños e infestados en condiciones naturales.

Estos resultados indican que a medida que el tamaño de *L. cubensis* aumenta, se incrementan los valores de la prevalencia, la abundancia y la intensidad promedio de las redias y de las cercarias de *F. hepatica* en ellas presentes. Mientras que disminuye la sobredispersión de las mencionadas formas larvarias en la población de caracoles.

CUADRO 6. COEFICIENTE DE AGREGACION (K) Y ESTADISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS REDIAS DE F. hepatica EN UNA POBLACION DE L. cubensis INFECTADAS EN CONDICONES NATURALES

Tamaño de los moluso	cos n	P(%)	A±1.C.	C.V(%)	l	K
(mm)	-					
$2 \le 3$	21	5	$0,57 \pm 0,57$	100	12	0,052
3 ≤4	55	15	$3,65 \pm 1,67$	46,2	25,12	0,087
4 ≤ 5	30	43	$11,10 \pm 3,58$	32,2	25,61	0,329
> 5	10	60	$40,50 \pm 14,63$	36,1	67,50	0,781

n = número de moluscos examinados

P = Prevalencia (% de moluscos infectados)

A = Abundancia

I.C. = Intervalo de confianza

C.V. = Coeficiente de variación

I - Intensidad promedio

CUADRO 7. COEFICIENTE DE AGREGACION (K) Y ESTADISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LAS CERCARIAS DE F. hepatica EN UNA POBLACION DE L. cubensis INFECTADAS EN CONDICONES NATURALES

de los molus (mm)	cos n	P(%)	A±1.C.	C.V(%)	l	K
2 ≤ 3	21	14	$1,57 \pm 1,08$	69,2	11	0,106
3 ≤4	55	22	$3,07 \pm 1,07$	34,9	14	0,156
$4 \le 5$	30	66	$16,47 \pm 3,72$	22,5	24,70	0,680
> 5	10	60	$23 \pm 7,30$	31,7	38,33	1,035

n: Número de moluscos examinados

p: Prevalencia A: Abundancia

I.C.: Intervalo de Confianza C.V.: Coeficiente de Variación

I: Intensidad Promedio

Es de resaltar, que la agregación es mas intensa para las cercarias que para las redias, en caracoles de tallas inferiores a 4 mm.

Todo esto es indicativo de una mayor capacidad hospedadora de los moluscos de tallas intermedias y grandes (4 mm). Lo cual tiene importantes implicaciones al elaborar estrategias de control para la distomatosis hepática, puesto que nos indicaría el momento propicio, es decir cuando haya predominio de caracoles de tallas superiores a los 4 mm, para la aplicación bien sea de tratamientos a nivel de los hospedadores definitivos o de molusquicidas u otras medidas de control sobre los hospedadores intermediarios (ver detalles en la Fig. 10 y Anexo 1).

En efecto, el uso de la información proveniente del molusco, hospedador intermediario, tiene el mérito de ser mas veraz y de gran valor predictivo. Ya que al realizar colectas mensuales de estos caracoles, discriminarlos en función de las tallas, inferiores o superiores a 4 mm y realizar su disección para la cuantificación de las redias y las cercarias que contengan, tal como lo realizaron Morales, Pino y Morales (1986), es posible elaborar un programa preventivo completo. Además de ser una manera mas idónea, que los resultados de exámenes coproscópicos de los hospedadores definitivos para el establecimiento de meses picos, en estudios epidemiológicos, para determinar la dinámica del parasitismo por F. hepatica en el curso del año.

"Ciclo biológico de Fasciola hepatica y posibilidades de control en sus diversas fases evolutivas"

#### MEDIDAS A TOMAR

- 1' Quimioterapia
- 1'a. Prod. de acción sobre juveniles y adultos.
- l'b. Prod. de acción sólo sobre adultos.
- 2'a. Quimioterapia con prod. ovicidas (Benzimidazol).
- 2'b. Otros control biológico (hongos)
  - ultrasonido, estercoleros.
- 3'a. Control Químico
- 3'b. Control Biológico (hongos, secreciones de Physa)
- 4'a. Control Químico: empleo de sust. malacocidas de acuerdo a la talla de caracoles predominante.
- 4'b. Control Mecánico: drenajes, zonas prohibidas.
- 4'c. Control Biológico: de predadores (aves, ranas, sapos, larvas de insectos). Plantas moluscocidas. Competidores.
- 5'. Iguales a 4'

#### CICLO BIOLOGICO

1) BOVINO PARASITADO

Bovino sacrificado

2) HUEVOS PRESENTES

EN HECES

Huevos no viables

3)MIRACIDIOS

Miracidios muertos antes de encontrar al Hosp.
Intermediario.
Terrenos sin Lymnaea

4) TERRENOS CON LIMNAEA

5)DESARROLLO LARVARIO INTRAMOLUSCO

(Esporoquistes, redias, cercarias)

Muerte del caracol infectado

- 7'a. Impedir el acceso del rebaño a zonas de riesgo.
- 7'b. No suministrar pasto de corte procedente de zonas infectadas.
- 7'c. Destrucción artificial: corte y eliminación del pasto de la zona infestada. Henificación, secado al sol, ensilaje, quema.
- 8' Igual a 7'
- Quimioterapia con Prod. de acción sobre formas inmaduras.

 Quimioterapia con prod. de acción sobre formas adultas.

# 6) PRODUCCION DE CERCARIAS (alta o baja).



8) METACERCARIAS MADURAS E INFESTANTES

> No ingeridas por el hospedador definitivo.

9)INGERIDAS POR EL HOS-PEDADOR DEFINITIVO

> El parásito muere antes de alcanzar el estado adulto.

10) FASCIOLAS ADULTAS EN EL HOSPEDADOR DEFINITIVO Proposición de una estrategia global en la lucha contra F. hepatica (Figura 10).

El esquema que presentamos a continuación se realizó en base al ciclo biológico de *F. hepatica* y en el se muestran las posibilidades de interrupción del mismo, en sus diferentes fases: Preparasitaria (huevos, miracidios y metacercarias), Parasitaria, en el molusco hospedador intermediario *Lymnaea cubensis* (esporoquistes, redias y cercarias) y en el hospedador definitivo (formas juveniles de *F. hepatica* en el parenquima hepático y adultas en los canalículos biliares).

Hemos querido destacar los aspectos del control, resaltando la importancia de lograr la disminución de la eliminación de huevos del parásito y el combate de los moluscos hospedadores intermediarios (ver Anexo 1), lo cual combinado con adecuadas prácticas de manejo de los potreros y de un cabal conocimiento de las zonas a riesgo (mapeo malacológico), constituyen las pautas básicas para el desarrollo de una adecuada estrategia para el control de este helminto.

# Medidas de Control de Lymnaea cubensis

- 1 Procedimientos biológicos
  - Aves silvestres, Aves domésticas, Ranas, sapos, larvas de dipteros.
- 2 Procedimientos mecánicos Drenajes, rellenos, desvio de acequias, arbolado, etc.
- 3 Procedimientos químicos
- A) Sulfato de Cobre: . en cristales grandes
  - . mezclado con arena (1:4 a 1:8)
  - . en solución (1 gr/m<sup>2</sup>).
- \* En suelos muy ricos en materia orgánica aplicar previamente Carbonato de sodio.
- B) Sulfato de Hierro: es más económico y menos tóxico que el Sulfato de Cobre. Dosis: soluc. al 1%, 8 a 10 HI/Ha
- C) Pentaclorofenol de Sodio: ha sido usado contra Biomphalaria spp, (es muy tóxico e irritante) Dosis: 4 a 10 gr/m<sup>3</sup>
- D) Pentaclorofenol: mas barato que el Sulfato de Cobre e igual en eficiencia. Dosis: 1: 1.000.000.
- E) Ambrosia maritima: uso experimental. dosis: sol. 1 %.

- F) Cloruro de Sodio: Dosis: en polvo: 15 Kg / 100 m. En solución: 0,5 %, 30.000 lt / Ha.
- G) Cal: barata y escasa peligrosidad. Dosis: en polvo 500 a 1.000 Kg / Ha; en solución: al 10 %, 10.000 lts/ Ha.
- H) Cianamida Cálcica: es inactivada por los rayos solares. Dosis: 300 Kg / Ha.
- I) Tritilmorfolina: su acción dura de 6 a 8 semanas, parece ser el mas eficaz y persistente. Dosis: 0,45 Kg / Has.

#### VI. LITERATURA CITADA

- Alvarado, I. y Mendoza, G. (1974). Areas potenciales para el desarrollo agropecuario. Cuenca del Motatán (Area 2 Valera - Trujillo). Tésis de Grado, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
- Anderson, R. y Gordon, D. (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within the host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. Parasitology, 85: 373-398.
- Atias, A. y Pesse, N. (1965). Distomatosis hepatica en la infancia. Boletín Chileno de Parasitología, 11: 36-38.
- Bendezú, P. y Landa, A. (1973). Distomatosis bepatica. Epidemiología y control. Univ. Nac. Mayor San Marcos. IVITA (Perú). 14: 1-32.
- Betancourt, A. (1978). Prevalencia de la fasciolasis bovina en el Estado Mérida, Venezuela. Trabajo de Ascenso de la Fac. de Ciencias Forestales, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
- Bohórquez, N. y Chirinos, A. (1973). Detección del primer foco de distomatosis bepática en el Estado Zulia. Rev. Ciencias Veterinarias, 3: 313-125.
- Boray, J.; Jackson, R. y Strong, M. (1985). Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. New Zealand Veterinary Journal, 33: 182-185.
- Boray, J. (1969). Experimental fascioliosis in Australia. Adv. in Parasit. 7: 95-204.
- Bowen, F. (1988). Levamisole/triclabendazole interaction study in calves. CIBA-GEIGY Animal Health Technical Report. Report 88/3/1195. Australia.
- Brennes, R.; Arrollo, G.; Muñoz, G. y Delgado, E. (1968). Estudio preliminar sobre Fasciola hepatica en Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 15: 137-142.
- Briceño-Rossi, A. (1950). Trabajos experimentales sobre *Fasciola hepatica*. Primera comprobación del verdadero huésped intermediario de este parásito en Venezuela. Rev. de San. y Asist. Soc. <u>15</u>: p. 381.
- Brower, J. y Zar, J. (1977). Field and laboratory methods for general ecology. Wm. C Brown Co. Pub., Iowa.
- Cabaret, J. (1982). L'appreciation de l'infestation des mollusques par les protostrongylidés: des paramétres utilisés et de leurs intérrelations. Ann. Parasitol. Hum. Comp. <u>57</u>: 367-374.

- Campbell, W. (1986). The chemotherapy of parasitic infections. The Journal of Parasitology, 72: 45-61.
- Cesari, I. y Alarcon De noya, B. (1987). Esquistosomiasis mansoni. Diagnóstico y control. Centro de Estudios Avanzados. IVIC, Caracas.
- Contreras, J. (1976). Abortos debidos a fasciolosis en una hacienda venezolana. Noticias Médico Veterinarias, 2: 190-195.
- De León, D.; Ritchie, L. y Chiriboga, J. (1972). Fasciolasis in dairy cattle in the Río Plata Basin, of the Dorado Area, Puerto Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico, <u>56</u>: 88-92.
- Dennis, W.; Stone, W. Y Swanson, L. (1954). A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova in faeces. J. Amer. Vet. Med. Assoc. <u>124</u>: 47-50.
- Díaz-Ungria, C. (1973). Helmintos endoparásitos de Venezuela. 3: 37-244.
- Euzeby, J. (1971). Les maladies vermineuses des animaux doméstiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tomo II, Maladies dues aux Plathelminthes. Vigot Freres Editeurs, Paris.
- Farell, C.; Shan, D.; Wescoh, R. y Long, B. (1981). An enzime-linked immunosorbent assay for diagnosis of *F. hepatica* infection in cattle. Am. J. Med. <u>42</u>: 237-240.
- Chirinos, A. y Hómez, G. (1989). Fasciolasis hepatica bovina en las márgenes de los ríos Guasare, Socuy y Limón de los Distritos Mara y Páez del Estado Zulia. Primer Congreso de Ciencias Veterinarias, Maracaibo, Venezuela.
- Gallo, P. y Vogelsan, E. (1946). Las zoonosis en Venezuela. XII Conferencia Sanitaria de Panamá. 27: p.28.
- Gallo, P. y Vogelsan, E. (1951). Nosografía veterinaria venezolana. Rev. Med. Vet. y Paras., 10: 3-47.
- Gretillat, S. (1967). Prospections malacologiques aux Antilles françaises. Observations sur l'écologie et l'elevage au laboratoire de *Lymnaea cubensis* Pfeiffer. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop., <u>20</u>: 279-289.
- Hanna, R. (1980). Fasciola hepatica: An immunofluorescent study of antigenic changes in the tegument during development in the rat and sheep. Exp. Parasitol., <u>50</u>: 155-170.
- Happich, F. y Boray, J. (1969). Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. I. Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic Fasciola hapatica infection in sheep. Aust. Vet. J., 45: 326-328.
- Harry, H. y Hubendick, B. (1964). The freshwater Pulmonate Mollusca of Puerto Rico. Goteborgs K. Vetensk. O. Vitter. Samb. Handl. 9 B: 1-86.
- Henriksen, S. (1974). Fascioliasis: Diagnostics. Nord. Med. Vet. 26: 21-22.
- Hillyer, G. y Santiago De Weil, N. (1979). Use of immunologics techniques to detect chemotherapeutic succes in infections with *F. hepatica*. II. The enzyme linked immunosorbent assay in infected rats and rabbits. J. Parasitol., 65: 680-684.
- Hope-Cawdery, M. y Conway, A. (1972). Productions effects of the liver fluke *Fasciola hepatica* on cattle. Vet. Rec. <u>11</u>: 641- 643.
- Leimbacher, F. (1975). Epidémiologie de la fasciolose ovine dans le centre ouest de la France. Essais d'adaptation d'une téchnique de prévision. Mémoire Ingenieur. CNAM, Paris.
- Lutz, A. (1928). Estudios de zoología y parasitología venezolanas. Reimpresión ordenada por la Univ. Central de Venezuela, en homenaje al Dr. A. Lutz en el centenario de su muerte (18/12/1955).

- Malek, E. y Cheng, T. (1974). Medical and economic malacology. Academic Press, New York.
- Malek, E. y Chrosciechowski, P. (1964). *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* from Venezuela and notes on distribution of *Pseudosuccinea*. Nautilus <u>78</u>: 54-56.
- Martinez, R. y Miranda, R. (1968). Aspectos de la reproducción en moluscos pulmonados del área metropolitana de caracas. En: Estudio de Caracas. 1. Ecología vegetal y fauna. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Meléndez, R.; Coronado, A.; Diaz, J. Y Crespo, G. (1983). Aspectos epidemiológicos de la fasciolosis bovina en el centro-occidente venezolano; con énfasis en la prevalencia del trematode y de su hospedador intermediario. Acta cient. venezolana, 34: 65-71.
- Morales, J. (1980). Prevalencia de la fasciolasis bovina en el Estado Trujillo, Venezuela. XXX Conv. Anual ASOVAC, Mérida, p. 156.
- Morales, G. y Pino, L. A. (1977). Manual de diagnóstico helmintológico en rumiantes. Edit. Colegio de Méd. Vet. del Estado Aragua, Maracay, Venezuela.
- Morales, G. Y Pino, L. A. (1981). *Lymnaea cubensis* Pfeiffer, 1839: hospedador intermediario de *F. hepatica* en la zona alta de los Andes trujilianos. Boletín de la Dirección de Malariología y San. Amb., <u>21</u>: p.39.
- Morales, G. y Pino, L. A. (1983). Infection de *Lymnaea cubensis* par *Fasciola hepatica*, dans une region d'altitude au Venezuela. Ann. Parasitol. Hum. Comp., <u>58</u>: 27-30.
- Morales, G. y Pino, L. A. (1987). Parasitología Cuantitativa. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, Caracas.
- Morales, G.; Rodríguez, E.; Pino, L.A. y Perdomo, L. (1985). Estadísticas vitales de *Lymnaea cubensis* (Pfeiffer, 1839) en condiciones de laboratorio. Bol. Dir. Malariol. San. Amb., 25: 89-99.
- Morales, G.; Pino, L. A. y Angulo, N. (1987). Resistencia de *Physa cubensis* a la infección con *Fasciola hepatica*. Rev. Fac. Cs. Vet., U.C.V., <u>34</u>: 43-55.
- Morales, G.; Pino, L. A. y Morales, J. (1986): Distribución de redias y cercarias de *Fasciola hepatica* en una población silvestre de *Lymnaea cubensis* del occidente del país. Acta Cient. Venezolana, 37: 532-534.
- Morales, G.; Pino, L. A. y Perdomo, L. (1986). Utilidad del conocimiento del tamaño del molusco *Lymnaea cubensis* en la implementación de programas de control de la distomatosis hepática. Rev. Fac. Cs. Vets., U.C.V., 33
- Morales, G.; Pino, L. A. y Perdomo, L. (1990). Eficacia del Triclabendazole y del Triclabendazole + Levamisole contra *Fasciola hepatica* en bovinos naturalmente infestados. Rev. Fac. Cs. Veterinarias, U.C.V. (En Prensa).
- Morales, G.; Pino, L.A. y Rodríguez, E. (1983). Diseño de estrategias de control para poblaciones de *Lymnaea cubensis* Pfeiffer *1839 y Lymnaea columella* Say 1817. Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental, <u>23</u>: 11-17.
- Moreno, L. y España, W. (1982). Parásitos gastrointestinales y F. hepatica en bovinos del asentamiento Las Majaguas, Estado Portuguesa. Vet. Trop. 7: 19-30.
- Moss, B. (1980). Ecology of fresh warters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Over, H. (1962). A method of determining the liver fluke environment by means of the vegetation type. Off. Int. Epiz., Mayo: 279-304.
- Parra, D. y Vizcaino, O. (1979). Manual de técnicas del programa de Parasitología y Entomología Veterinaria. Instituto Colombiano Agropecuario. Tibaitatá, Colombia.

- Pascal, E.; Hómez, G.; Huerta, N. y Chávez, K. (1977). Prevalencia de distomatosis hepatica bovina a nivel de mataderos del Estado Zulia, Venezuela. Vet. Trop., 2: 43-59.
- Pecheur, M. (1984). L'infestation prénatale des veaux par Fasciola hepatica. Ann. Méd. Vét., 128: 567-568.
- Pino, L. A. y Morales, G. (1982a). Lymnaea cubensis Pfeiffer 1839, hospedador intermediario de Cotylophoron cotylophorum (Fishoeder, 1901) Stiles y Goldberger 1910, en condiciones naturales. Acta Cient. Venezolana, 33: 57-60.
- Pino, L. A. y Morales, G. (1982b). Hábitats de *Lymnaea cubensis* Pfeiffer 1839, hospedador intermediario de *Fasciola hepatica* detectados en el Estado Trujillo, Venezuela. Acta Cient. Venezuelana, 33: 61-65.
- Pino, L. A.; Morafes, G.; Rodríguez, E. y Perdomo, L. (1986). Crecimiento y alometría de Lymnaea cubensis (Pfeiffer 1839) y L. columella (Say 1817). Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental, 26: 50-60.
- Pino, L.A.; Morales, G. y Perdomo, L. (1992). Infestación prenatal de becerros por Fasciola hepatica. Revista Científica, FCV de LUZ, 2: 59-60.
- Prichards, R. (1987). The pharmacology of anthelmintics in livestok. International Journal for Parasitology, 17: 473-482.
- Ramírez, J. y Vergani, F. (1949). Contribución al estudio del ciclo evolutivo de la Fasciola hepatica en Venezuela. Revista Gran Colombiana, 3: 817-826.
- Reids, J.; Doyle, J.; Armour, J. y Jennings, (1972). F. hepatica infection in cattle. Veterinary Record, <u>90</u>: p. 486.
- Robinson, C. (1985). Triclabendazole. Drugs of today, 21: 227-233.
- Rodníguez, E.; Morales, G.; Pino, L. A. y Perdomo, L. (1987). Estadísticas vitales de *Lymnaea columella* (Say 1817) en condiciones de laboratorio. (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae). Acta Cient. Venezolana, 38: 465-473.
- Rondelaud, D. (1980). Données épidémiologiques sur la distomatose humaine a *Fasciola hepatica* dans la région du Limousin, France. Les plantes consommées et les limnées vectrices. Ann. Parasitol. Hum. et Comp., 55: 393-405.
- Sinclair, K. (1972). The patogenicity of *Fasciola hepatica* in pregnant sheep. Br. Vet. J. <u>128</u>: 249-259.
- Smeal, M. y Hall, C. (1983). The activity of triclabendazole against immature and adults *Fasciola hepatica* infections in sheep. Australian Veterin ary Journal, <u>60</u>: 329-331.
- Southwood, T. (1975). Ecological Methods. Chapman and Hall, Londres.
- Tagle, I. (1970). Enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Parte Primera: Generalidades y Helmintología. Edit. Andres Bello, Santiago, Chile.
- Talegón, F. (1974). Fasciolosis hepatica de los rumiantes. Publicaciones Cient. Ovejero, España.
- Taylor, E. (1965). La fasciolose et la douve du foie, etudes agricoles de la F.A.O., No. 64, Roma.
- Vergani, F. (1955). Datos biológicos experimentales sobre el caracol *Lymnaea* (Galba) cubensis. Bol. Inst. Inv. Vet.; 23: 34-55.
- Vivas, J. (1976). Comprobación de distomatosis hepatica por *Fasciola hepatica* en huéspedes bovinos en la zona alta del páramo del Estado Mérida. Trabajo de Ascenso Fac. de Farmacia, Univ. de los Andes, Mérida.

- Vogelsan, E. (1948). Contribución al estudio de la parasitología animal en Venezuela, XVI. Ecto y endoparásitos en animales domésticos y salvajes de la Guayana venezolana. Rev. Med. Vet. y Parasit., 7: 145-152.
- Wherle, R. y Richards, R. (1988). Fasciolasis- a strategic approach. En: Triclabendazole publications, Edit. por: Richards, R. y Wherle, R. 1989, CIBA-GEIGY, Animal Health, Suiza.
- Yarzabal, L., Petralanda, I. y Arango, M. (1985). La técnica de Elisa y sus aplicaciones en inmunología clínica. En: Manual de métodos en inmunodiagnóstico. Edit. por: Contreras, C.; Feo, E.; Ramírez, R. y Blanca, I., Fondo Edit. Acta Científica Venezolana, Caracas.