

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de Tesis:

BUSQUEDA DE UN NUEVO HOSPEDADOR INTERMEDUARIO
PARA FASCIOLA HEPATICA

* * *



Presentado por:

LUCILA MARIA VENTURINI

= LA PLATA 1974 =

* * *

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACION

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

RECTOR NORMALIZADOR:

Profesor Doctor Francisco CAMPERCHIOŁ

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADÉMICOS:

Profesor Guillermo CENDAGORTA

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

D. Rodolfo ACHEN

* * *

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

DECANO:

Profesor Doctor ROBERTO R. FORMENTI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADÉMICOS:

Doctor Carlos Alberto IRAZOLA

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

D. Juan José LEGORBURU

SECRETARIO ADMINISTRATIVO:

D. Hugo O. RAMIREZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROFESORES TITULARES DEDICACION EXCLUSIVA

ANGULO, Eusebia.-Histología normal.
CARROZA, Jesús S.W.-Física Biológica
DELPRATO, Ismael O.-Anatomía descriptiva.
GALLO, Guillermo G.-Cl. Grandes animales.
PRACCA Lydia A.-Cl. Pequeños animales.
QUINTEROS, Indalecio Rodolfo.-Genética y biometría.
TOSO, José C.-Patología de la reproducción y obstetricia
ZACCARDI, Eduardo M.-Fisiología.

* * *

PROFESORES TITULARES DEDICACION TIEMPO PARCIAL.

AGUIRRE Walter C.-Microbiología aplicada.
AGUIRRE Walter C.-Microbiología especial.
CELANI BARRY Rafael.-Análisis clínicos Ia. parte
CORONADO Marcos I.-Ind. e Insp. Sanit. de Carnes
INSUA Norberto E.-Química y Física aplicada.
MANZULLO Alfredo.-Inmunología gral. y aplicada.
PEROTTI Rodolfo M.-Zootecnia esp. IIIa. parte.
REPETTO Osvaldo M.-Química biológica.
VIDELA Pablo Domingo.-Medicina operatoria.

CIPRIAN Florencio.-Patología general (Transitorio)
 de DIEGO Alberto I.-Enfermedades infecciosas (Transit.)

* * *

PROFESORES TITULARES DEDICACION SIMPLE.

ARGENTI Nelson J.-Análisis clínicos IIa. parte.
 BAUDOU Alejandro C.-Insp.Sanit. de Productos Alimentic.
 CARO Gregorio A.-Zootecnia especial Ia. parte
 CHAVES Juan Carlos.-Parasitología y Enf.Parasitar.
 d'OLIVEIRA Julia C.-Farmacología, Farma. y Terap.
 EPSTEIN Bernardo.-Anatomía y F.patológicas
 GALVAN Oscar Juan C.-Semiología y propedéutica
 GIMENO Emilio J.-Higiene, Epid. y Salud Pública
 GIMENO, Emilio J.-Salud Pública
 MALIANDI Florestán S.-Parasitología comparada
 MANZULLO Alfredo.-Inmunología Ia. y IIa. parte.
 PANZONI Erico E.-Economía agraria.
 PENIMPEDE Francisco C.-Microbiología.
 POLIZZA Aldo.-Insp.e industria sanit. de leche
 PONCE Guillermo.-Zootecnia gral. y Agroost.
 RIGJA Aixa V. de.- Animales de laboratorio.
 TOUCEDO Guillermo s.-Patología quirúrgica.

* * *

PROFESORES ASOCIADOS DEDICACION EXCLUSIVA.

BOSCH Ricardo A.-Biología celular y Embriología
 MARTIN Alcides A.-Anatomía y F.Patológicas.

* * *

PROFESORES ADJUNTOS DEDICACION EXCLUSIVA.

BOTINO Jorge A.-Patología de la reproducción y obstetric.
 ETCHEVERRIGARAY María E.-Virología
 INAZ Enrique.-Cl. Grandes animales.
 MOCOROA Emma E.-Química y Física aplicada.
 REINOSO CASTRO Hugo W.-Jefe de S.A.C.E.R.

* * *

PROFESORES ADJUNTOS TIEMPO PARCIAL

ALBERDI Cecilio.-Insp. Sanit. de Productos Aliment.
 BOCIA Francisco O.-Cl. Pequeños animales
 CIPRIAN Florencio.-Anatomía y F.Patológicas.
 CORTELEZZI Carlos O.-Zootecnia Esp. Ia. parte
 DEMARCHI Raúl S.-Inmunología gral. y aplicada.
 CHIARAVALLE Ambrosio.-Insp. e Indus. sanit. de leche
 FERNANDEZ de LIGER Hugo.-Clínica Grandes animales
 LEDD Jorge E.-Parasitología y Enf. parasitarias

- MENENDEZ Néstor A.-Anatomía y F.Patológicas.
- OCHOA Mario E.-Zootecnia esp. IIa. parte
- ROJAS Edmundo R.-Fisiología
- VALLEJOS Mercedes V.- Micología méd. e ind.

* * *

PROFESORES ADJUNTOS DEDICACION SIMPLE.

- BACIGALUPÓ Ernesto R.-Enfermedades infecciosas.
- CACIVIO Rubén A.-Economía agraria.
- CALCARAMI Martín J.-Farmacología, Farma. y Terap.
- CARO Gregorio A.-Director Inst. de Zootecnia
- FORMENTI Roberto R.-Química biológica
- GAMBOA Rogelio A.-Patología quirúrgica.
- GRAF Alejandro.-Inmunología gral.
- GRAF Alejandro.-Inmunología Ia. y IIa. parte
- ISEAS Fortunato B.-Patología médica
- MARTINO Juan J.-Microbiología.
- MARTINO Olindo A.-Salud Pública
- MICHANIE Silvia C.-Microbiología aplicada.
- MOISO Alejandro C.-Microbiología
- MORELLI Héctor A.-Zootecnia especial IIIa. parte
- OLAIZ Hugo J.-Zootecnia esp. y Agroest.
- OTTINO Julio F.-Histología normal.
- PFIRTER Emilio L.-Zootecnia gral.
- POLIZZA Aldo.-Insp.San. de Productos alimenticios
- PORTELA Raúl A.-Semiología y propedéutica.

SCIAMMARELLA Alfredo M.-Medicina operatoria

TESORIERO Catalina.-Análisis clínicos Ia. parte

* * *

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS DEDICACION EXCLUSIVA.

CANEDI Arturo A.-Patología de la repr. y obstetricia

LAGRECA Liliana A.-Zootecnia gral. y Agrosl.

MAROTTA Eduardo G.-Zootecnia esp. Ia. parte

MULLER Alberto G.-Genética y Biología.

REDELONGHI Remo B.-Biología celular y Embriol.

TRUMPER Samuel J.-Biología celular y Embriol.

* * *

JEFE DE TRABAJOS PRACTICOS TIEMPO PARCIAL.

ALZUGARAY Hebe A.-Cl. Pequeños animales.

ANDREATTA Jorge M.-Semiología y propedéutica

AULISEO Oscar.-Insp. e ind. San. Lache y der.

BARBA Victor O.-Anatomía descriptiva.

BERNAGOZZI Jorge A.-Inmunología gral. y aplicada.

BISCHOFF Jorge R.-Genética y biometría.

CASTANA María E.-Química biológica.

CUMBA Susana A.-Patología médica

CHAMPREDONDE Hugo N.-Patología general.

- DEL CASTILLO Federico C.-Histología normal.
- FERNIN de VEGA.-Física biológica
- FELDMAN Raquel E.-Parasitología comparada
- FERNANDEZ Enrique J.-Microbiología
- FORNER Jesús J.A.-Insp.Sanit.Prod.Alimenticios
- GOMEZ Carlos M.-Inmunología gral. y aplicada.
- GRIGERA Fernando.-Fisiología
- IRIART Julio R.-Anatomía y F.Patológicas
- JENSSEM Alicia D.-Higiene, Epid. y S.Pública
- MALIANDI Florestan S.(h).-Hig. Epid. y S.Pública
- MARTINEZ Alfredo H.-Cl.Grandes animales.
- MARTINEZ Alfredo H.-Parasitología y Enf. parasitarias
- MURO Alicia.-Cl.Pequeños animales.
- NADER Juan C.-Insp. ind. Sanit. de leche y der.
- NOIA Miguel A.-Física biológica
- NOSEDA Ramón P.-Patología médica
- OLIVA Héctor J.-Anatomía comparada y Topog.
- ORTEGA César F.-Cl.Pequeños animales.
- PAGEL Sigfredo. S.-Física biológica
- PELLON Horacio C.-Insp. Sanit. de Prod. Aliment.
- PENNIMPEDE Enrique F.-Inmunología gral. y aplicada
- PENNIMPEDE María Teresa del A.-Insp.Sanit.Prod.Aliment.
- PEREZ CASTILLO Nelly E.-Química y Física aplicada
- PETINATTO Héctor M.-Insp. e ind. Sanit. de carnes y der.
- PIOVANO Nicolás M.-Química biológica.
- PONZIO Juan J.-Histología normal.
- RAMIREZ Elida E.-Insp. Sanit. de Produc. alimenticios
- REYES Franklin E.-Cl.Grandes animales.
- RODRIGUEZ Benjamin B.-Zootecnia esp. Ila. parte
- RONSIMO Roberto O.-Fisiología.

RUAGER Jorge.-Anatomía y F.patológicas
SCIUTTO Dualdo L.-Virología
TARSIA Elba E.-Física biológica.
TOBIA Marta E.-Microbiología especial.
VERINO Francisco J.-Histología normal.
VISCIDO Lidia.-Sección Radioisótopos.
PEREZ AZUMENDI Rodolfo.-Patología gral.(Transit.)
MIRANDA Ofelia Sara.-Enfermedades infecciosas (Transit.)

* * *

- BUSQUEDA DE UN NUEVO HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

PARA FASCIOLA HEPATICA -

• • •

Lucilla Maria Venturini

1974.-----

En memoria del Doctor Juan José BOERO

INTRODUCCION: En diversas partes del mundo han sido descritas numerosas especies del género *Limnea* como únicos hospedadores intermediarios de *Fasciola hepática*.

En nuestro país, *Fasciola hepática* es descrita por primera vez por Wernicke en 1888. Posteriormente, se hallaron casos de fasciolosis en humanos. En el año 1928, Bacigalupo descubre el hospedador intermediario, descrito como *Limnea viatrix* D'Orbigny. En 1931, halla *limnea viator* infectada espontáneamente.

En su trabajo "*Fasciola hepática, su ciclo evolutivo en la Argentina*", desarrolló el tema ampliamente. El hecho que la difusión de otros géneros de *Gastropodos* es aparentemente más amplia y que se hallan con mayor frecuencia que *Limnea* sp. sugiere la presencia de otro hospedador intermediario o de fluctuaciones en las poblaciones de aquéllos.

Importancia de la Fasciolosis: La fasciolosis es una enfermedad de amplia difusión en nuestro medio. Abarca desde el extremo Norte de nuestro país hasta el centro patagónico y de la precordillera hasta el Atlántico, con gran incidencia en las zonas anegadizas del Litoral y Provincia de Buenos Aires.

Las pérdidas económicas no han sido evaluadas oficialmente y es una tarea difícil porque los daños causados por la enfermedad hace que esas pérdidas sean indirectas.

La *Fasciola hepática* adulta se instala en los canalículos biliares de bovinos y ovinos de todas las e-

dades, pero para llegar allí ha debido atravesar todo el parénquima hepático. Como resultado de su migración producen una destrucción del mismo, que en caso de ser masiva, pueden llegar a matar al animal. Si éste pasa ese período de la infestación, cosa frecuente, los tremátodos hallan su localización definitiva; el hígado quedará disminuido en función y tamaño y se sumará a estos efectos los de los parásitos adultos que producirán engrosamiento y obstrucción de los canales biliares.

Esta breve reseña de la enfermedad es sólo para señalar que las pérdidas en un campo pueden ser evaluadas directamente en casos de muerte por distomatosis aguda, pero no es tan fácil cuando los animales sufren la enfermedad en forma crónica, que repercutirá en pérdidas importantes de peso, retraso del crecimiento, desmejoramiento del animal; en óvinos pérdida de la calidad de la lana, hecho éste de gran importancia dado que la enfermedad abarca una gran área de la zona de explotación de ovinos. En bovinos y ovinos notamos, por último, los descomisos que se producen por reses emanciadas y todos los hígados de animales que sufren o han sufrido la enfermedad.

Se suma a esta enfermedad y como consecuencia de ella, enfermedades de origen clostridial que produce gran mortalidad. Es de gran importancia, en la profilaxis de la distomatosis, el conocimiento del ciclo evolutivo del parásito, pues es posible disminuir la incidencia si se puede actuar contra el hospedador intermedio, y como hecho fundamental se lo debe conocer, para combatirlo adecuadamente.

El objetivo de este trabajo fué reproducir experimentalmente el ciclo evolutivo de *Fasciola hepática* en caracoles distintos de *Limnaea viator*.

La bibliografía consultada de nuestro país y los expertos consultados indican que al presente no se han profundizado las investigaciones que realizara Baciagalupo. Cabe consignar que no especifica el número de caracoles que trató de infectar experimentalmente y que su experiencia no se refiere a ejemplares jóvenes de los géneros *Ampullaria*: *Littoridina*, *Potomolithus*, *Succinea*, *Chilina*, *Physa*.

Este punto es importante dado que sería uno de los soportes de la investigación el utilizar formas juveniles.

Estableciendo una comparación está comprobado que algunas especies de *Limnaea* que no se infectan con miracidios de *Fasciola hepática* en estado adulto.

Este trabajo se limitó a los géneros *Littoridina*: especies *paronappei* y *piscium* y *Physa fontinalis*.

1. MATERIAL Y METODOS.

1.1. Huevos de Fasciola hepática.

El huevo de Fasciola hepática mide 120-150 μ de largo por 63 a 90 μ de ancho. Son de cáscara delgada, de color amarillo coráceo a marrón, operculados. Al llegar al exterior se divisan numerosas células vitelinas que llenan la cavidad formada por la cáscara. En el medio se encuentra el cigoto. Este cigoto completa su desarrollo luego de pasar un tiempo que puede oscilar entre 10 días a meses, según la t° ambiente, dando origen al miracidio. Esta es la forma infectante para los gastrópodos. Se trata de una forma juvenil que posee una estructura muscular cutánea. Sus medidas son de 150 μ de ancho. Está cubierto de cilias. Posee una mancha ocular en forma de x, glándulas cefálicas, 2 protonafridios y un botón cefálico..

Los huevos de Fasciola hepática, fueron extraídos la mayor parte de las veces, de bilis de bovinos u ovinos enfermos de distomatosis. Se utilizó en pocos casos el método de extraer los huevos de Fasciola hepática del útero de tremátodes adultos por aspiración con pipeta Pasteur, pero se dejó por que de esta manera tienen menor porcentaje de viabilidad en razón de los distintos grados de madurez.

En la tabla 1, se especifica el origen de los huevos de Fasciola hepática de cada uno de los cultivos.

1.1.1. Recolección de huevos de Fasciola hepática.

Para recolectar los huevos de Fasciola hepática, se procede de la siguiente manera: se vuelca el contenido de la vesícula biliar en un vaso cónico de 500 ml

de capacidad. Se deja sedimentar por lo menos durante una hora como mínimo. Se toma muestra del sedimento para verificar la presencia de huevos.

Se vuelca el sobrenadante, se resuspende el sedimento con agua destilada, se deja sedimentar nuevamente por un lapso igual de tiempo. Se lava nuevamente el sedimento. Si es necesario por la presencia de cuerpos extraños (descamaciones epiteliales, mucus, fasciolas adultas), antes de realizar el último lavado, se pasa por un colador de malla muy fina. Los huevos se pueden retirar del fondo del vaso cónico con pipeta Pasteur o volcando el sobrenadante. Después de vaciar un vaso, se le agrega pocos ml de agua destilada para enjuagar por agitación las paredes del mismo y desprender los huevos que han quedado adheridos, que son muy numerosos.

1.1. 2 Siembra

Cuando los huevos han sido retirados de los vasos cónicos se disponen en cajas de Petri con agua destilada tapadas para evitar la evaporación del agua.

1.1. 3 Almacenaje:

Se realiza en cajas de Petri con agua destilada, en refrigerador a 8° C. A esta temperatura no hay evolución, manteniéndolos así el tiempo deseado hasta comenzar la incubación.

1.1. 4 Incubación:

Es necesario que los huevos de Fasciola hepática

ca permanezcan en el medio ambiente un tiempo variable para que desarrolle en su interior el miracidio, I^o, forma larveria, infectante para el molusco que actúa como hospedador intermediario. Se realizó de dos formas: I: una vez dispuestos los huevos en placas de Petri se dejan a t° ambiente y con luz natural. Se controlan periódicamente para determinar el grado de evolución. Exige en los últimos períodos revisiones diarias para detectar el comienzo de la liberación de los miracidios hacia el medio.

II: Incubación a temperatura constante

1.1.5 : Se lleva a cabo en una incubadora corriente a 28°C de temperatura, en completa oscuridad. De esta manera los miracidios evolucionan completamente y están listos para abandonar el huevo en período que oscilan entre 9 y 13 días, pero no hay eclosión mientras los huevos no son expuestos a la luz. De esta manera es posible también, mantenerlos por períodos más largos de tiempo, produciendo la eclosión por exposición a la luz cuando es necesario.

1.1. 6 Tiempo de incubación a temperatura ambiente.

En la tabla 1, se exponen los datos correspondientes a fecha de siembra, fecha de nacimiento de los miracidios, Temperatura media correspondiente a ese período y origen de los huevos de Fasciola hepática.

" TABLA I "

Siembra	Nacimiento	Días	T° media ambiente	Origen
3-3	1-4	29	20° C	Matadero
16-3	13-4	28	19°5 C	Las Flores(1)
23-3	16-4	24	18°5 C	Matadero
3-9	15-10	42	14°5 C	Matadero
15-9	19-10	26	14°1 C	Matadero
18-10	3-11	16	19°1 C	Inhausti (2)
10-10	3-11	14	18° C	Matadero
16-11	29-11	13	21° C	Matadero
22-11	3-12	11	22°4C	Matadero
4-12	29-12	25	23°4 C	Matadero

" TABLA II "

En esta Tabla se anotaro los datos de: fecha de comienzo de incubación a 28°C, eclosión por exposición a la luz.

Huevo de Fasciola hepática a 28° C	Eclosión
8 de marzo	20 de marzo
16 de marzo	4 de abril
4 de abril	17 de abril
17 de abril	26 de abril
28 de abril	8 de mayo

2. CARACOLES.

Los géneros de Gastrópodos utilizados en la experiencia fueron Littoridina y Physa. La siguiente des-

cripeión si bien no se ajusta estrictamente a la sistemática zoológica tiene la finalidad de ser ~~ilustra~~ ilustrativa.

Littoridina es de respiración estrictamente acuática, por poseer branquias; de conchilla pequeña, oval, acuminada, fina, lisa, rara vez estriada, color córneo pálido, oliváceo o castaño, anfractos poco convexos, abertura oval, menor que la mitad del largo de la conchilla, opérculo fino, oval. Ovíparo.

Los individuos pertenecientes al género Physa son pulmonados (de respiración aérea), pequeños a medianos en tamaño. La conchilla desarrollada en espiral levógiro. Su color es de amarillo a blanco grisáceo. La abertura es alargada. Ovíparo.

2.1. Origen de los caracoles investigados.

• Tabla III •

Género	Especie	Lugar de recolección	Fecha de recolec.	Presencia de distomatosis en el lugar
Littoridina	piscium	Magdalena (Pcia.Bs.As)	Set.1970 Oct.1972	+ si - no
Littoridina	parchappei	Las Flores (Pcia.Bs.As)	Oct.1970	si
Physa	rivalis	Entre Ríos Salta peceras	Nov.1970 Oct.1971	si no no

2.2. Conservación de caracoles.

2.2.1 (a) Muertos: Cuando no se puede realizar inmediata

mente el estudio de caracoles que han muerto. Se los conserva en formol al 5%. Si bien la técnica para forreas larvarias de trematodes es investigarias en vivo, puede ser de utilidad guardar el material para confrontaciones posteriores.

2.2.2 (b) En estos casos no se trata sólo de conservar caracoles, sino también de criarlos en laboratorio, Ambas finalidades están cumplidas cuando se logra un habitat adecuado. Como se citó anteriormente, Littoridina es un género de agua dulce. La base de su cría es proveer aguas limpias, alimentación y con t° templada (18° C), Se logra mayor reproducción, que de otro modo se realiza estacionariamente en primavera y verano. Son de cualquier modo bastante resistentes a las aguas con materias orgánicas en descomposición y a la escasez de agua, siempre que en el medio se mantenga algo de humedad.

La alimentación es provista por detritus orgánicos de origen vegetal o directamente por ingestión de material verde. La reproducción se efectúa por medio de huevos que se van a hallar adheridos a las conchillas de los caracoles o bien a ramitas, hojas, etc., que se encuentran en el medio.

Los huevos son dispuestos individualmente y no en masa como en otros géneros de caracoles teniendo una cubierta externa de aspecto de quiste, bastante resistente.

En los casos en que se realiza la cría con fondo de arena o barro, es difícil encontrar la totalidad de ellos en la superficie.

Cría de Physa; se cría a pesar de ser aerobia, perfectamente en peceras. Depositaa sus huevos en conjun-
tos que están rodeados por masas cilíndricas gelatinosas. Más sensibles que Littoridine a los cambios de medio y temperatura, es imprescindible mantenerlas en invierno con t° superior a la del medio ambiente porque sino mueren.

Recipientes

2.2.3 1) Bandeja encozada, cubierto su fondo por barro del lugar de origen, con plantas no acuáticas (gramillón, flor de S. Lucía). El nivel de agua no pasa nunca más de de 3 cm. Ocasionalmente se le agrega cereal como suplemento alimenticio. Se cría Littoridinã y Limnea

2.2.4 2) Pecera de 10 litros de capacidad, con aireador calefactor para 18° C, plantas acuáticas y fondo de grada. Suplemento alimenticio lechuga, óptimo crecimiento (se crían las dos especies)

2.2.5 3) Cristalizadores grandes (22 cm de diámetro):
fondo de arena, plantas, suplementado con lechuga (se mantiene sólo Littoridina parchappel).;

3.- INFECCION DE CARACOLES.

Introducción.

La producción de miracidios se realizó prácticamente durante todo el curso del estudio, no sólo las veces anotadas en las tablas correspondientes a incubación.

Los contactos de miracidios/caracoles se realizaron algunas veces hasta 4 veces antes de matarlos.

3.1. Puesta en contacto de caracoles con miracidios.

Se realiza de dos formas:

- a) en recipientes pequeños (por ejemplo en cajas de Petri), para observar el comportamiento de los caracoles y miracidios bajo la lupa.
- b) en algún recipiente donde habitualmente viven los caracoles en laboratorio, exceptuando las peceras de cría y los recipientes de cría de Linaea.

De esta manera al intentar la infección experimental de los caracoles, se sometió a variaciones de dos tipos:

- a) variación de la concentración de miracidios;
- b) la variación del medio en que se realizó dicho contacto fué dada por: 1) Ph del medio acuoso: se realizaron las pruebas en pH de 6 a 9.

2) Luz: con luz artificial directa; con luz solar directa; con luz solar indirecta.

En las últimas pruebas se utilizaron Linaea como testigo de la viabilidad de los miracidios, provenien

tes éstos de incubación a t° ambiente e incubación a 28°

3.1.1 Reacción Miracidios: Caracoles

Miracidios: se mostraron más activo con las temperaturas más elevadas en la zona más cercana a la luz donde se concentran.

Caracoles: Littoridinas sp. de distintas edades, en general no manifiestan molestias, pero aparentemente cuando ocurre, cierran su opérculo.

Physa sp. adultos, al igual que los recién nacidos, no manifiestan ninguna reacción. Individuos de tamaño intermedio entre estos extremos de aproximadamente 2 meses de edad, fueron los únicos atacados por los miracidios, que se fijaron hasta en número de 5. En estos casos, se observaron los cambios de forma que se realiza el miracidio en su intento de penetrar, pero no se observó la penetración, aún después de una observación continúa de dos horas.

Puede haber fijación en Littoridina ocasionalmente. Esta fijación fué observada aún en presencia de limnea en el medio, sobre la cual la fijación es mucho mayor en frecuencia e intensidad.

4. INVESTIGACION DE FORMAS JUVENILES DE TREMATODES

En todos los casos se limitó a confirmar o descartar formas evolutivas de *Fasciola hepática*.

- 4.1. a) para formas que desarrollan dentro del caracol:
esporocistos-radías.

Se realizó mediante disecciones. La manera óptima de estudiarlos es "in vivo"; pero en casos que no fué posible, se realizó en formas fijadas y comprendió la observación, medición y tomas de microfotografías.

En estos estadios es bastante dificultoso reconocer si pueden pertenecer o no a Fasciola hepática.

4.2 b) formas fuera del hospedador intermediario:

4.2.1 1) cercarias: se estudiaron cercarias recogidas en el agua donde viven los caracoles. El procedimiento seguido fué observación en microscopio, tinción en algunos casos, medición y fotografía.

4.2.2 2) metacercarias: fueron recogidas de las paredes de los recipientes. Para desenquistarlas, se utilizó dos métodos:

1) digestión con soluciones digestivas (pepsi-na-ácido clorhídrico), preparadas y naturales (jugo gástrico y biliar y pancreático de humano, procedente de sondajes, sin resultados positivos.

2) los otros medios usados fueron mecánicos, a plastamiento y ruptura del quiste con aguja histológica.

Para este método, hay que contar con gran cantidad de material, pues son muy pocos los ejemplares que se obtienen enteros. El estudio de metacercarias enquistadas es difícil, pues no se pueden apreciar mayores detalles morfológicos.

3) digestión de las metacercarias por un hospedador receptivo para Fasciola hepática.- Se administraron a cobayos, metacercarias en un número nunca menor de 30 individuos.

5.- RESULTADOS.

5.1. Fijación de miracidios: es constante este fenómeno en ejemplares Physa juvenil (no sucede lo mismo en caracoles pequeños y adultos). Puede haber fijación en algunos pocos ejemplares en piscium y parcha ppei.

5.2. Investigación de formas juveniles: Caracoles de laboratorio: sobre 100 Physas y aproximadamente 300 Littoridinas, no se halló ninguna forma larvaria. Las limneas que sobrevivieron a la infección presentaron abundantes redias.

5.3. Caracoles con infecciones naturales: hasta el presente, no se halló ninguna forma, cuyas características correspondieran a las de Fasciola hepática.

5.4. Administración de metacercarias a cobayo: resultados negativos.

6.- CONCLUSIONES

El trabajo, en un primer momento, se desarrolló en función de encontrar caracoles infectados naturalmente con *Fasciola hepática*. Los resultados fueron negativos pero no suficientes para descartarlos como posibles hospedadores intermediarios. Por ese motivo se dirigió el esfuerzo a lograr la reproducción experimental de los caracoles. Obtenido este desarrollo se sometieron dichos caracoles, libres de cualquier infección, a la acción de los miracidios de *Fasciola hepática*. Nuevamente los resultados fueron negativos; se trató un número de individuos que considero representativo, al compararlo con los porcentajes de infección de los caracoles descriptos como hospedadores intermediarios habituales, en condiciones naturales, y variando el medio para obtener más posibilidades.

Las conclusiones extraídas del presente trabajo son: que en los casos de los campos de los cuales se remitió material afectados con distomatosis no pueden haber desempeñado los géneros de *Littoridina* citados el papel de hospedador intermediario, y que bajo las condiciones experimentales a que fueron sometidos no son susceptibles de infectarse con miracidios de *Fasciola hepática*.- Los siguientes moluscos: *Littoridina parchappei*, *Littoridina piscium* y *Physa fontinella*

DESCRIPCION DE CERCARIA.

Localización: tubo digestivo de *Littoridina piscium*.

Color: beige rosado, con acúmulos más oscuros.

Forma: cilíndrica en estado de reposo con exytreidad anterior aguda y posterior roma con hendidura o cavidad donde se inserta la cola. Esta es larga y posee una membrana transparente.

Medidas: Las medidas varían según se trate de cercarias conservadas en formol 5% ó vivas, notándose en las primeras un achicamiento general.

Formol

	Largo	ancho
cuerpo	162-252 micras	54-72 micras
cola	198-270 micras	18-27 micras

vivas

cuerpo en contracción	180 micras	99 micras
en extensión	324 micras	146 micras en con- tracción.
en reposo	270 micras	
cola	270-324 micras	18-27 micras

Ancho de la membrana de la cola (máximo): 38 micras

Algunos detalles de estructura.

Presencia de ventosa oral de 40 micras de diámetro. Abertura oral con eminencias dentiformes (aproximadamente cuatro). Por sobre la ventosa oral se comprueba

ba la presencia de conductos que se unen a células situadas en la parte medial del cuerpo, correspondiendo posiblemente a glándula de penetración.

En la extremidad posterior se encuentra una masa celular en forma de medialuna. La vesícula excretoria, con forma de X se aprecia en cercarias recién extraídas del medio, no así en las que han permanecido por corto tiempo entre porta y subreobjeto o las conservadas.

Posee ojos, no posee ventosa ventral. Posiblemente por falta de técnica no fué posible evidenciar células flamíferas.

* * *

Salida de un miracidio de Fasciola hepática de un huevo (tres fotos). Se pueden apreciar huevos vacíos con el opérculo levantado.

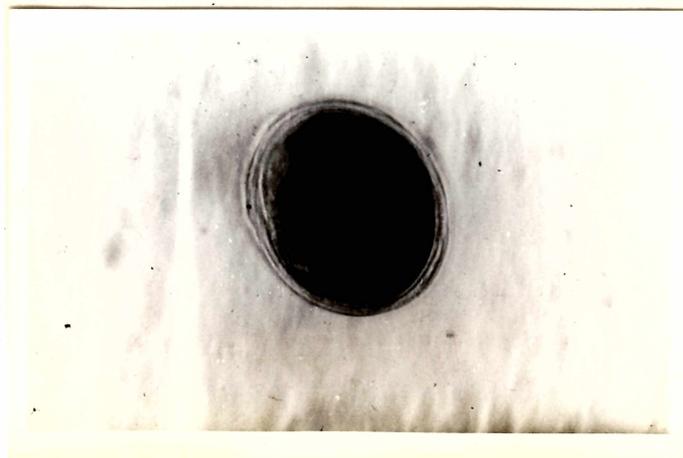


Miracidio libre donde se observa la mancha ocular en forma de X.



FORMACION DE UNA METACERCARIA

Estas cercarias tienen como característica la rapidez con que se enquistan. Fué imposible fotografiar la cercaria con cola pues al ser puesta entre porta y cubreobjetos se separaba de ella. Mide aproximadamente 550 micras. Fué hallada en *Littoridina parchappei*



HUEVOS DE CARACOLES

Huevos de *Littoridina* sp. Miden aproximadamente 550 micras. Son depositados sobre hierbas o superficies lisas (recipientes), individualmente. En su interior se aprecia el caracolito en desarrollo.



idem anterior.



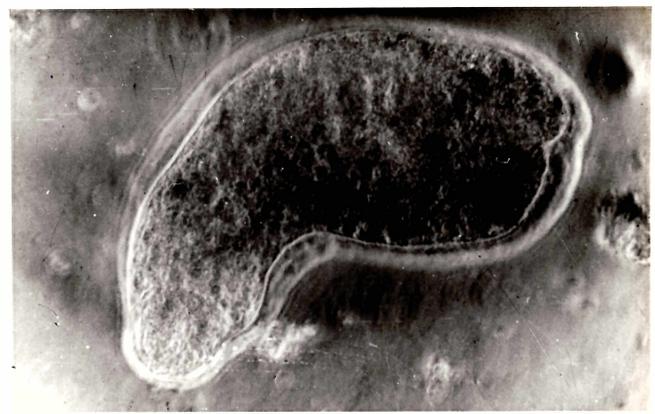
Huevos de *Physa rivalis*.- Estos son mayores que los anteriores; son depositados también en hierbas o superficies lisas, pero en acúmulos dentro de una masa gelatinosa, variando la cantidad de ellos (aproximadamente siete en las primeras oviposiciones).

CERCARIAS Y REDIAS

Cercarias como las des-
criptas.



Redias que dan origen a
las cercarias anteriores.
En la de la foto anterior
se pueden apreciar las cé-
lulas germinativas.

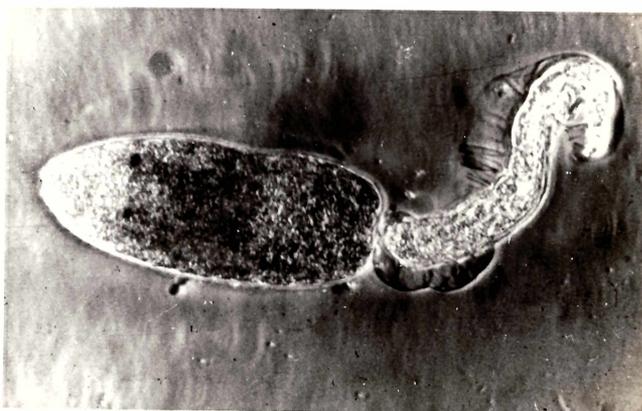


CERCARIA DESCRIPTA

En esta cercaria se observan los túbulos que van desde la abertura oral hasta las células ubicadas en la zona medial, cuadrangulares de núcleos prominentes; los ojos, la abertura oral y la masa celular posterior en forma de medialuna. La cola ya ha sido separada del cuerpo.



En esta foto se aprecia claramente la membrana de la cola



En la extremidad anterior la ventosa oral más evidente. La vesícula excretoria reducida (ve).



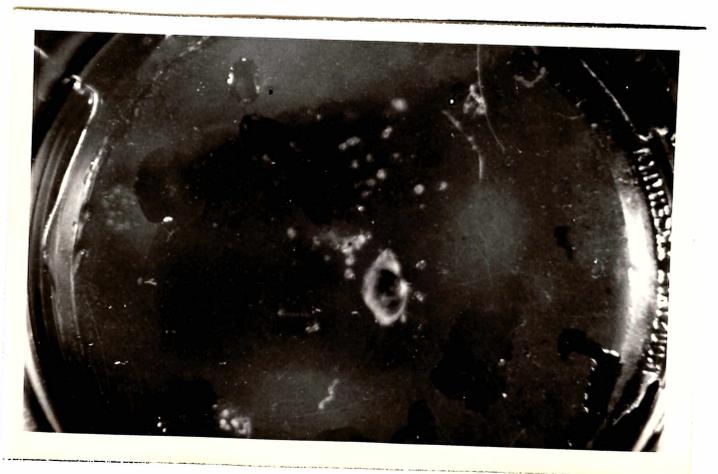
Littoridina piscium



Littoridina pachappei



Physa fontinalis



• BIBLIOGRAFIA •

• • •

- 1- Arru, E. e Mura, D.: Sulla distomatosi da Fasciola hepatica in Sardegna.
- 2- Bacigalupo, J.: Fasciola hepatica, su ciclo evolutivo en la Argentina. An. Facultad medicina veterinaria. Montevideo (Uruguay), 1, 1942.
- 3- Benex, J.: Fractionnement d'un antigene délipé de Fasciola hepatica. Annals de l'Institut Pasteur. Paris (France).
- 4- Boray, J.C.: Host relationship between Limnaeid and Fasciola hepatica. Veterinary medical Rev. May, 1968.
- 5- Boero, Juan José: Parasitosis animales.
- 6- Daves, B.: The trematoda. 1946.
- 7- Favatti, V. e della Croce, G.: Sulla diagnosi in vivo di distomatosi epatica nel bovino.
- 8- Happich, F.A.: Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. Australian Vet. J., 45(7):326/331. Parkville, 1969.
- 9- Hubendick, B. (1951): Recent Lymnaeidae their variation, morphology, taxonomy, nomenclature and distribution. K. Svenska vetensk Akad. Handl Fjarde Serien
- 10- Le Cahier de médecine vétérinaire. Numéro especial. Diciembre, 1971.
- 11- Pecher, M.: La cercaire de Fasciola hepatica. Le rôle de la couleur, de la lumière et des plantes sur le choix de l'endroit de fixation. La cercaire est-elle infectante? Ann. Méd. Vét., 111:5. Bruxelles, 1967.

- 12- Pecheur, M.: L'infestation experimentale par metacercaries de *Fasciola hepatica*. Ann. Méd. Vét., 111: 6. Bruxelles, 1967.
- 13- Ross, J.G.: An epidemiological study of fascioliasis in sheep. T.Vet.Rec., feb. 1967.
- 14- Ross, J.G.: Further season of epidemiological studies of *Fasciola hepatica* infections in sheep. T. Vet. Rec., march, 1967.
- 15- Ross, J.G. and Dow, C., and Todd, J.R.: A study of Fascioliasis in sheep. T.Vet.Rec., may 1967.
- 16- Ross, J.G.: *Limnea truncatula* population; the use of a soil sampling technique in studies of fascioliasis. British Vet. J., 124:6. London, 1968.
- 17- Rowan, W.: The mode of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*. Experimental parasitology, 5:2. March 1956.
- 18- Rowan, W.: The mode of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*. II. Colloidal nature of the viscous cushion. Experimental parasitology, 6:131-142. 1957.
- 19- Saint Guillan, M.: Etude histologique des premières stades évolutifs de *Fasciola hepatica*. Acta zoologica et pathologica antverpiensia, 46. 1968.
- 20- Taylor, E.: La fascioliasis y el distoma hepático. F.A.O., 1965.
- 21- Wesenberg, C-Lund: Contribution to the development of the trematoda digenea. II.: The biology of the freshwater cercariae in Danish freshwater. S.B.Kendal: Relationship between the species of *Fasciola* and their molluscan host.

- 22- Wikerhauser, T.: A rapid method for determining the viability of *Fasciola hepatica* metacercarie. Amer. Vet. journal.

• • •

• RESUMEN •

Se desarrollaron pruebas de laboratorio para comprobar o descartar el desempeño del rol de hospedador intermediario de *Fasciola hepática* por los géneros de gastrópodos *Littoridina* (especies: *parchappi* y *piscium*) y *Physa* (especie: *fontinalis*).

Con tal fin se trabajó con dichos gastrópodos y miracidios de *Fasciola hepática*.

Los huevos del tremátode fueron extraídos por lavado y decantación de bilis de animales afectados.

A posteriori de la incubación (que se realizó de dos formas: a) a temperatura ambiente y luz natural; b) a 28° en oscuridad, en incubadora), se liberaron los miracidios infestantes para los moluscos. (Tabla I y II)

Los caracoles procedían de lugares donde había animales enfermos de distomatosis, otros de lugares donde había animales enfermos de distomatosis, otros de lugares donde no había infección y por último se utilizaron los criados en forma experimental en el laboratorio. Tabla III.

La cría de caracoles se realizó en diversos recipientes: cristalizadores, bandejas y peceras con aireador y calefactor.

El contacto de miracidios con caracoles. Se realizó en medio acuoso con diversas variantes de luz, pH y temperatura.

Los resultados se evaluaron por medio de las siguientes formas:

1) Caracoles criados en laboratorio:

a) Observación de la fijación de los miracidios;

b) Disección de gastrópodos para verificar presencia o

- ausencia de formas evolutivas de Fasciola hepática.
- 2) Caracoles procedentes de campos infectados:
- a) disección de los mismos; estudio de las formas larvarias halladas con el objeto de determinar si correspondían a Fasciola hepática.
 - b) Recolección de cercarias libres en el agua: el mismo procedimiento que para el punto anterior.
 - c) Metacercarias halladas en el medio: a) liberación de los quistes por diferentes métodos y posterior estudio; b) administración de las mismas a cobayos.

Los resultados fueron negativos para Fasciola hepática.

Las conclusiones son: que en los casos de los campos afectados con distomatosis, de los cuales se remitieron caracoles para estudio, no pueden haber sido el género Littoridina (especies pisciua y parchappei) responsable de la intermediación de la Fasciola hepática.

Para los gastrópodos criados en Laboratorio se concluye que bajo las condiciones experimentales a que fueron sometidos, no son susceptibles de infectarse con miracidios de Fasciola hepática.

El presente trabajo de tesis es parte de investigación realizada durante el período 1971-1973 en mi carácter de becaria de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (Beca de iniciación en la investigación), en la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Dicha investigación comprendió otros moluscos en su comportamiento como posibles hospedadores intermedios de Fasciola hepática, de los cuales no se pudo extraer hasta el momento conclusiones por ser necesario la utilización de mayor número de individuos. Por esa razón se continúa el trabajo actualmente, siguiendo los lineamientos generales del plan de trabajo original y una metodología que sufre variaciones particulares casi únicamente en lo que respecta a las características culturales de los diversos gastrópodos.

- Breve reseña del trabajo.

Ampullaria sp: Las investigaciones fueron siempre realizadas sobre individuos traídos al laboratorio. Tanto los intentos de infección experimental como las investigaciones de formas juveniles fueron negativos.

Chilina sp: Procedentes de Loncopué (Pcia. de Neuquén)

Este género quizá sea uno de los que más exigen profundizar el estudio. Son caracoles pulmonados, que se hallan en abundancia en el Sur, en zonas de alta incidencia de distomatosis.

La fijación de miracidios en los caracoles es muy marcada. No fué posible obtener la reproducción de estos últimos en condiciones de Laboratorio, aunque se con

sigue una sobrevida larga (hasta 1 año). Se realizó el estudio de formas larvarias de Trematodos de caracoles con infecciones de campo, hallándose diversas formas de cercarias, redias y metacercarias, pero no corresponden con las de Fasciola hepática.

Planorbis sp: Recientemente se obtuvo la reproducción en Laboratorio. Se trabajó poco con este género.

Littoridina sp: Procedente de Loncopuá (Provincia de Neuquén).

Se reproducen escasamente en condiciones de laboratorio.

Fueron observadas algunas formas de Trematodos y se administraron metacercarias formadas a partir de cercarias emergidas de estos caracoles a cobayos, con resultados negativos.

Limnea sp: Se obtuvo la colonización de una cepa de Limnea que se ha adaptado para su vida y multiplicación en laboratorio, manteniéndose una población constante desde febrero de 1973. Dichas Limneas han sido utilizadas como testigos con respecto a la viabilidad de los miracidios, desde que fué posible obtener cantidades que permitieran ese uso.

El trabajo en Limnea tiene dos objetivos: 1) el conocer las características culturales permitiría mantener otras especies además de Limnea viatrix y estudiar su rol como hospedador intermediario de Fasciola hepática.

2) Estandarizar una cepa que actúe regularmente como hospedador intermediario de Fasciola hepática con fines de estudio y reproducción experimental de la enfermedad.

Las clasificaciones de los caracoles fueron realizadas por la Doctora Zulma Castellanos, Titular de la Cátedra de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

El agradecimiento a todas las personas que prestaron su apoyo para la realización de este trabajo y en especial a:

- Doctor Jorge RUAGER, Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata

- Doctor José FERNANDEZ de LIEGER, Idem ant.

- Doctora Zulma CASTELLANOS, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Univ. Nac. La Plata.

- Doctor Sixto COSCARON, Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nacional de La Plata.

- Doctora Delfida FERNANDEZ.

- Doctora María C. Gallard, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.

• • •

**Art. 7mo.: La Facultad no se hace solidaria de
las opiniones vertidas en la Tesis.**

