

EVALUACION DE LA RELACION ENTRE *Fasciola hepatica* y *Lymnaea columella*. PROVENIENTE DE DOS LOCALIDADES. ^a

SERGIO ENDEJE MENDOZA ^b
FROYLAN IBARRA VELARDE ^b

RESUMEN

Se efectuó un estudio del caracol *Lymnaea columella*, hospedero intermediario de *F. hepatica* con dos poblaciones diferentes provenientes de las localidades de Acambay, Edo. de México, y Huauchinango, Pue., con la finalidad de evaluar bajo condiciones de laboratorio la susceptibilidad de los caracoles a la infección. Se consideró el índice de infección, producción de metacercarias, número de caracoles liberadores, rango de liberación obtenido por cada caracol, comportamiento poblacional de los moluscos de ambas localidades con base en el índice de mortalidad, viabilidad *in vitro* e *in vivo* e infectividad de las metacercarias obtenidas. Los resultados mostraron diferencias importantes en la relación de estos caracoles con el parásito. *L. columella* de Puebla presentó mayor susceptibilidad a la infección con *F. hepatica* que *L. columella* proveniente del Edo. de México.

INTRODUCCION.

En México y en varias partes del mundo los trabajos sobre tópicos malacológicos de la fasciolosis inician con el conocimiento del índice de infección y la producción de cercarias de ciertas especies de caracoles limneidos al ser infectados por el parásito como se ha indicado en los trabajos

de Alcibar¹ y Col Cruz⁶ Escudero y Col⁸; Gómez¹⁰ y Col. Nieto y Col¹³ Roberts⁴, y Sampaio y Col¹⁵.

También se puede investigar sobre la infectividad y viabilidad de las metacercarias del parásito, éstas pueden obtenerse de infecciones naturales^{5,17}, o de infecciones experimentales^{2,3,7,9}, al completar el ciclo de vida con un mamífero experimental.

Sin embargo un estudio más completo de la relación *Fasciola hepatica* hospedero intermediario debe contener la evaluación integrada de lo antes mencionado^{4,11} con mucho mayor razón en países como México en que se han descrito varias especies de caracoles limneidos que bajo ciertas condiciones actúan como hospederos intermediarios de esta parasitosis^{12,13,16,17}. Así se puede tener un conocimiento real sobre la potencialidad de cada una de estas especies de moluscos en la transmisión del parásito. Por estudios previos se conoce que *Lymnaea columella* es susceptible a la infección experimental con *Fasciola hepatica* y que la infectividad de las metacercarias obte-

a Recibido para su publicación el 18 de junio de 1987.

b Proyecto Fasciolosis, CIMEVET - INIFIAP - SARH, Km. 15.5 Carr. México-Toluca, México, D.F. 05110.

nidas en esas infecciones es alta cuando se les compara con las que se obtienen de otras especies de caracoles infectados. Por lo tanto se pretende tener la evidencia experimental de si al infectar dos poblaciones diferentes de una misma especie de caracol limneido, en este caso *L. Columella*, existen discrepancias en la evaluación de la susceptibilidad del caracol y la infectividad de las metacercarias. El objetivo del presente estudio consistió en la infección simultánea de dos poblaciones diferentes de distintas localidades del caracol *Lymnaea columella* para evaluar tanto la susceptibilidad que presentan a la infección, como la infectividad de las metacercarias obtenidas por medio de la administración a conejos.

MATERIAL Y METODOS.

Caracoles. Se colectaron caracoles *Lymnaea columella* de Acambay, Edo. de México y Huauchinango, Pue. que fueron trasladados al laboratorio y colocados en medio de cultivo con algas del género *Oscillatoria sp* y lodo de su habitat natural. Cada tercer día los moluscos se transfirieron a nuevos medios de cultivo donde se mantuvieron hasta la producción de masa de seis generaciones para obtener caracoles progenitores y así lograr grupos experimentales que tuvieron diferencias mínimas de edad.

Infección. Los moluscos se colocaron en cristalizadores con agua, 100 por cada población para infectarse en

forma masiva, se añadió un promedio de cuatro miracidios por caracol. Transcurridas 4 h de la infección, los caracoles se regresaron a sus medios de cultivo, se cambiaron cada tercer día y se mantuvieron así hasta la etapa de liberadores de cercarias. En cada cambio de cultivo se revisaba si existían caracoles muertos para de inmediato realizarles la disección e identificar las formas larvianas presentes.

Liberación de cercarias. Los caracoles se colocaron en forma individual en bolsitas de plástico con agua de la llave, y fueron sometidos a cambios bruscos de temperatura con el fin de inducir la liberación. La primera liberación de cercarias se programó a los 40 días de infectados los moluscos y se obtuvieron cuatro liberaciones semanales. Las metacercarias obtenidas después de contarlas se almacenaron en tubos de ensaye que contenían agua destilada a temperatura de 4°C.

Viabilidad de las metacercarias.

a) **Evaluación in vitro.** Se realizó por desenquistamiento mecánico a los 10 días posteriores a la última liberación y se seleccionaron al azar 20 metacercarias de cada una de las liberaciones obtenidas en las dos poblaciones.

Los quistes se pinchaban con aguja de disección con objeto de remover la capa externa de la metacercaria y así observar la motilidad del parásito o en su defecto la mortalidad por la presencia de una masa difusa dentro del quiste.

CUADRO No. 1

PRODUCCION DE METACERCARIAS DE F. hepatica OBTENIDAS POR LOCALIDAD
EN CADA UNA DE LAS EXPOSICIONES

LIBERACIONES	1a. LIB.	2a. LIB.	3a. LIB.	4a. LIB.	TOTAL
<u>Lymnaea columella</u> Edo. de México	249	214	276	281	1020
<u>Lymnaea columella</u> Edo. de Puebla	3174	505	967	1339	5985

b) **Evaluación in vivo.** Se formaron seis lotes de cinco conejos cada uno para cada población, a cada conejo se le administraron 20 metacercarias dosificadas en cápsulas de gelatina por vía oral. Cuatro lotes se infectaron con cercarias de cada una de las liberaciones obtenidas, un lote se infectó con una combinación proporcional de to-

das ellas y el lote restante quedó como testigo sin infección. Transcurridas ocho semanas los animales se sacrificaron con el fin de coleccionar las fasciolas presentes en el hígado.

Evaluación estadística. Los resultados obtenidos se analizaron median-

CUADRO No. 2

NUMERO DE CARACOL LIBERADORES Y SU PRODUCCION DE METACERCARIAS DE
F. hepatica EN CADA UNA DE LAS EXPOSICIONES DE AMBAS POBLACIONES.

LIBERACIONES	1a. LIB.	2a. LIB.	3a. LIB.	4a. LIB.	RANGO DE LIBERACION REGISTRADO POR CARACOL EN LAS CUATRO EXPOSICIONES DE AMBAS POBLACIONES.
METACERCARIAS PRODUCIDAS: <u>Lymnaea columella</u> Edo. de México Caracoles liberadores	249 \bar{X} = 19.15 13	214 \bar{X} = 26.75 8	276 \bar{X} = 55.2 5	281 \bar{X} = 70.25 4	1 - 174
METACERCARIAS PRODUCIDAS: <u>Lymnaea columella</u> Edo. de Puebla Caracoles liberadores	3174 \bar{X} = 96.18 33	505 \bar{X} = 29.70 17	967 \bar{X} = 69.1 14	1339 \bar{X} = 167.3 8	12 - 625

te un análisis de varianza (ANDEVA), se trabajó a un 90% de confianza o en su defecto con una prueba de "T" de Student. Cuando se encontraron diferencias significativas, se realizó además la prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION.

De acuerdo con los resultados obtenidos no hubo diferencias significativas ($P > 0.01$; $P > 0.05$) en la positividad a la infección entre ambas poblaciones, lo cual se podía esperar ya que se trabajó con la misma especie de caracol. Sin embargo, ambas poblaciones si mostraron diferencias significativas ($P < 0.01$) en cuanto a la producción de metacercarias. En lo referente a producción de cercarias la primera y cuarta liberación fueron las mejores. A la interpretación de diferencias en la interacción localidad por liberación de *L. columella* del Edo. de Puebla fue la mejor, seguida en orden de creciente por la 4a. 3a. y 2a. Todas las liberaciones de caracoles del Edo. de México fueron en estadísticas iguales entre sí (Cuadro 1).

El número de caracoles liberadores de Puebla y México fue de 33 y 13 y aunque en cada liberación el número de caracoles decrecía, la producción de cercarias continuó con fluctuaciones importantes (Cuadro 2); mientras los caracoles del Edo. de México liberaron cercarias en un rango de 1-174, los de Puebla liberaron entre 12 y 625 por caracol.

Por lo observado se puede inferir que quizá estas diferencias estén asociadas a una marcada competencia por el alimento entre los caracoles de cada lote en el transcurso de su mantenimiento, tal y como lo señalan los conceptos de Kendall¹¹. Otra explicación tentativa puede relacionarse con su grado de adaptación a las condiciones de laboratorio.

Con respecto a mortalidad evaluada cada semana se obtuvo un índice similar para ambas poblaciones y en la 7a. semana se obtuvo el mayor número de caracoles muertos, el ANDEVA mostró que cuando morían más de 13 caracoles de una localidad en la misma semana, la mortalidad ya era considerable.

El análisis del comportamiento poblacional indicó que a pesar de mostrar una respuesta muy similar a la presencia del parásito en el periodo de infección, el desarrollo del tremátodo tuvo una variación considerable entre los caracoles de ambas localidades y en consecuencia la susceptibilidad de *F. hepatica*, esta infección fue favorable a los moluscos de Puebla (Gráfica 1).

En relación a la viabilidad de metacercarias *in vitro* no existió diferencia significativa ($P > 0.01$; $P > 0.05$) entre ambas localidades ni tampoco en la interacción localidad por liberación. Sin embargo, una diferencia fue que se recuperó un mayor número de fascio-

CUADRO No. 3

NUMERO DE FASCIOLAS ADULTAS RECUPERADAS EN CONEJOS INFECTADOS
CON METACERCARIAS OBTENIDAS EN LAS CUATRO EXPOSICIONES DE AM-
BAS LOCALIDADES.

LIBERACION DE CERCARIAS	1	2	3	4	COMBI- NACION	TOTAL
Fasciolas adultas (Edo. de México)	10	0	5	7	2	24
Fasciolas adultas (Edo. de Puebla)	17	0	6	16	12	51

CUADRO No. 4

INDICES DE RECUPERACION REGISTRADOS EN CADA UNA DE LAS EXPOSICIONES DE AMBAS POBLACIONES

	L I B E R A C I O N	# DE META CERCARIAS ADMINIS-- TRADAS.	# DE ANI- MALES IN- FECTADOS	# DE ANI- MALES PA- RASITADOS	INDICE DE PARASI- TACION	# DE - ANI- MA- LES -- MUER-- TOS	INDICE DE MORTA- LIDAD	# DE FASCIO LAS RE CUPERÁ DAS
<u>Lymnaea</u> <u>columella</u> (Edo. de Mex)	1a.	20	5	5	1	0	0	10
	2a.	20	5	0	0	0	0	0
	3a.	20	5	2	0.4	2	0.4	5
	4a.	20	5	4	0.8	1	0.2	7
	COMB.	20	5	2	0.4	0	0	2
<u>Lymnaea</u> <u>columella</u> (Edo. de - Puebla)	1a.	20	5	3	0.6	0	0	17
	2a.	20	5	0	0	0	0	0
	3a.	20	5	3	0.6	0	0	6
	4a.	20	5	5	1	0	0	16
	COMB.	20	5	4	0.8	0	0	12

DATOS DE LA VIABILIDAD in vitro EN LAS METACERCARIAS
OBTENIDAS

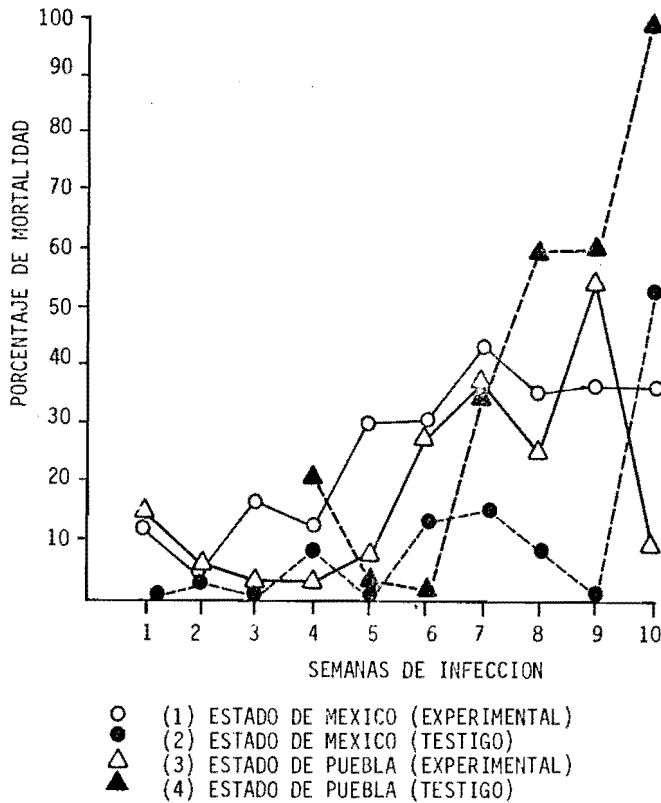
LIBERACION DE CERCARIAS No.:	1	2	3	4
<u>Lymnaea columella</u> (Edo. de México)				
No. metacercarias desenquistadas y su %	20 50% + 50% -	20 -- 100% -	20 40% + 60% -	20 50% + 50% -
<u>Lymnaea columella</u> (Edo. de Puebla)				
No. metacercarias desenquistadas y su %	20 40% + 60% -	20 5% + 95% -	20 70% + 30% -	20 90% + 10% -

las adultas de cercarias obtenidas en la primera liberación y seguida de la cuarta, a este respecto no existe explicación (Cuadro 3), de acuerdo con lo que se cita en la bibliografía es indudable que la edad, manejo y almacenaje de los quistes puede influir en los índices de recuperación de fasciolas registradas (Cuadro 4).

Por otra parte, el porcentaje de viabilidad in vitro coincidió con la viabilidad in vivo en virtud de que las metacercarias menos viables fueron aquellas de la liberación de ambas poblaciones (Cuadro 5). Datos citados por Boray⁴ difieren de los aquí encontrados ya que en dichos informes no comparan la viabilidad de metacercarias producidas por dos poblaciones de caracoles de una misma especie.

La diferencia en susceptibilidad a la infección con miracidios de *F. hepatica* y la relativa semejanza en la infectividad de las metacercarias de ambas poblaciones obtenidas en este trabajo, son difíciles de extrapolar a las condiciones de la naturaleza. Para ello se requieren numerosos estudios sobre diversos aspectos de la biología del caracol *L. columella* y su interacción con factores bióticos que determinan su existencia. Sin embargo, se puede señalar que existe cierta discrepancia entre las dos poblaciones a nivel experimental como hospederos intermedios de *F. hepatica* y con la consideración de que las metacercarias de *L. columella* comparadas con las de otras tres especies han resultado ser más infectivas², se manifiesta importante continuar estudios relacionados

COMPORTAMIENTO DE LOS CARACOLES *Lymnaea columella* DE AMBAS LOCALIDADES DURANTE EL PERÍODO DE INFECCIÓN, CONSIDERANDO EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD.



con este importante trasmisor potencial de la fasciolosis en México.

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, se puede concluir lo siguiente: 1) Las dos poblaciones de *L. columella* presentan un índice de infección similar con miracidios de *Fasciola hepática*. 2) Los caracoles de ambas localidades presentan un comportamiento poblacional similar cuando son infectados con *Fasciola hepática*. 3) El número de caracoles que resultaron liberadores por locali-

dad, fue mayor para la población de Puebla; además se observaron diferencias muy marcadas en el número de cercarias emitidas por caracol favorable también a los caracoles de Puebla. 4) En general, la producción de metacercarias es bastante mayor para la población de Puebla en relación a la alcanzada por los caracoles del Edo. de México. 5) Con base en lo obtenido, existe una diferencia en la susceptibilidad a la infección con este trematodo, favorable a la población de Puebla. 6) La infectividad de las metacer-

carias obtenidas de ambas localidades, se considera similar, sólo varía si se toma en cuenta la edad de los quistes, esto es, la liberación de donde provengan.

SUMMARY.

Two different populations of snails *L. columella* were studied to evaluate their infection with *F. hepatica* under laboratory conditions. The parameters evaluated were: Susceptibility of snails to infection with miracidia of the parasite, number of shedders, range of shedding per snail, population behavior of molluscs from both locations based on the mortality index, viability *in vitro* and *in vivo* as well as infectivity of the shedders metacercariae. The results showed important differences in the relationship of snails with the parasite. *L. columella* from Puebla showed better susceptibility to infection with *F. hepatica* than *L. columella* from the State of México.

LITERATURA CITADA

- 1 ALCIBAR, M.P., ANAYA, D.G.R. Y FLORES, C.R., 1983. Infectividad y producción de cercarias en caracoles *Lymnaea cubensis* con relación al origen del miracidio. **Reunión de Inv. Pec. en México.**
- 2 ANAYA y D.G.R., DE PAZ V.O., MIRANDA, H.D. y PEREZ, P.A., 1986. Determinación de la mejor combinación de animal de laboratorio-especie de caracol-carga parasitaria-origen de miracidio, para estudios con *Fasciola hepatica*. **Tec. Pec. Méx.** 50:36.
- 3 BORAY, J.C. and ENIGK K., 1964. Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* metacercariae. **Z. Trop. Parasitol.** 13 (3): 324.
- 4 BORAY, J.C., 1969. Experimental fasciolosis in Australia. **Ad. Parasitol.** 7:95.
- 5 BRENES, R.R., MUÑOZ, G., ARROYO Y DELGADO E., 1968. Estudio preliminar sobre *Fasciola hepatica* en **Costa Rica.**, Rev. Biol. Trop. 15.
- 6 CRUZ-REYES, A., 1983. Variación de la susceptibilidad de seis especies de limneidos a la infección con *Fasciola hepatica*, 4a. (IV). Reunión Anual de Parasitología Veterinaria. Resúmenes de Trabajo.
- 7 DAWES, B. and HUGHES, D.L., 1964. Fasciolosis: The invasive stages of *Fasciola hepatica* in mammalian host. **In Ad. Parasitol.** 2:97.
- 8 ESCUDERO, C.J.L. y FLORES, C.R., 1984. Evaluación de la susceptibilidad de tres especies de caracoles limneidos con miracidios de *Fasciola hepatica* de dos orígenes. Reunión de Investigación Pecuaria en México. 250.
- 9 ESCUDERO, C.J.L., GARCIA, T.C.G. e IBARRA, V.O.F., 1985. Viabilidad e infectividad de la metacercaria de *Fasciola hepatica* obtenida de limneidos infectados a diferentes edades. **Reunión de Investigación Pecuaria en México.**
- 10 GOMEZ, A.T., PEREZ, R.R. y ZERON, B.F., 1978. fasciolosis en México estado actual y huéspedes intermediarios. **Rev. Lat. Amer. Microbiol.** 20.
- 11 KENDALL, S.B., 1965. Relationship between the species of *Fasciola* and their Molluscan host. **Ad. Parasitol.** 3:62.
- 12 NAJERA, F.R.A., 1982. Fasciolosis en Zoonosis Parasitarias. 1a. Ed. **Fac. Med. Vet. y Zoot.** UNAM. México, D.F. p 237.
- 13 NIETO, C.J., TREJO, C.L. y JAIME, N.J., 1985. Comparación de la susceptibilidad a infección con *Fasciola hepatica* y *Paramphistomum colicophorum* en cuatro especies de limneidos del Estado de Morelos. **Rev. de Inv. Pec. en México.** 14.
- 14 ROBERTS, E.W., 1950. Studies on the life-cycle of *Fasciola hepatica* (Lynnaeus) and of its snail host, *Lymnaea* (Galba) *truncatula* (Muller) in the field and under controlled condition in the laboratory. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** 44.
- 15 SAMPAIO, X.L., MARTINEZ, F.A.R. and MATTOS DOS, S.M.A., 1967. The susceptibility to *fasciola hepatica* of some fresh-water snail in Portugal and Spain. **Second Inter. Liver. Fluke colloquium** 1979.

16 TREJO, C.L. y CRUZ, L.A., 1981. Gasterópodos pulmonados dulceacuícolas (identificación) e importancia en el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* en el Estado de Puebla. 2a. Reunión Anual de Parasitología Vet. 13.

17 TREJO, C.L., MATA, R.E., GONZALEZ, O.A. CASAS, R.J.L. y SALINAS, H., 1982. Epidemiología de la Fasciolosis bovina en el Estado de Durango, 3a. Reunión Anual de Parasitología Vet.