

OBSERVACIONES SOBRE LA EVOLUCION DE LA FASCIOLA
HEPATICA. LINNEO 1758COMPROBACION DEL HUESPED INTERMEDIARIO EN
CHILE (*)

Por el Dr.

Isaías TAGLE V.

Parasitólogo del Instituto de Investigaciones Veterinarias

La Fasciola hepática, Linneo 1758, parásito llamado corrientemente distoma hepático o "pirihuín" y en el Aysen "saguaypé", nombre que también se le da en Argentina, es conocido desde hace varios siglos; ya en 1379, lo mencionaba Jehan de Brie (1). Sin embargo, su evolución sólo se vino a conocer a fines del siglo pasado, gracias a las investigaciones de Weinland, Thomas y Leuckart (2), quienes establecieron que en Europa el huésped intermediario es el caracol de agua dulce llamado *Limnaea truncatula*.

La F. hepática con seguridad fué introducida en América junto con las primeras importaciones de ganado realizadas por los conquistadores de este continente y como observan Brumpt y colaboradores (3), constituye un ejemplo típico de la adaptación de un parásito a nuevos huéspedes intermediarios vicariantes; en efecto, se adaptó a caracoles de agua dulce propios de América y de especies muy vecinas a la *L. truncatula* de Europa, así en la región sur de nuestro continente se desarrolla en la *Limnaea viator*, d'Orbigny, que existe según Germain y Neveu Lemaire (4), en el Perú, Uruguay, Argentina y Chile hasta la Patagonia; debemos agregar que también existe en el Brasil, pues C. Pinto (5), la cita como huésped intermediario de la F. hepática en ese país.

En cambio, el pequeño distoma del hígado, el *Dicrocoelium lanceolatum* (Rudolphi 1803), no se ha aclimatado en América, salvo en ciertas regiones del Canadá, por que tal como indican Brumpt y colaboradores (3), no ha

(*) Trabajo presentado a las Primeras Jornadas de Medicina Veterinaria y leído en la sesión de 6 de Agosto de 1943 y a la Sociedad Chilena de Historia Natural en sesión de Septiembre de 1943.

(1) Los números entre paréntesis se refieren a la Bibliografía.

encontrado los moluscos terrestres susceptibles de substituir al género *Helicella*, cuyas especies son sus huéspedes intermediarios en Europa.

La distomatosis producida por la *F. hepática* está enormemente difundida en nuestro país, solamente no ha sido encontrada en Magallanes. Dada la importancia que tiene este parasitismo, nos propusimos efectuar investigaciones relacionadas con su evolución y orientadas especialmente a determinar con precisión el huésped intermediario y la manera de combatirlo. Se suponía que los huéspedes intermediarios eran la *Limnaea truncatula* y el *Planorbis chilensis*, los cual nos parecía dudoso, por ser el primero un caracol propio de Europa y el segundo por pertenecer a un género muy alejado del género *Limnaea* y como señalan Brumpt y col. (3), por las experiencias con resultados negativos que se han obtenido, es bien poco probable que un planorbis pueda ser el huésped intermediario de la *F. hepática*. En todas partes del mundo es un caracol del grupo de los limnédidos.

RESUMEN DE NUESTRAS INVESTIGACIONES

INCUBACION DE LOS HUEVOS DE *F. HEPATICA*.— Los huevos, procedentes de distomas recogidos en el Matadero de Santiago, y obtenidos por decantación, fueron colocados en cápsulas de vidrio con una capa de 5-10 mm. de agua, algunos fueron dejados a la temperatura del medio ambiente, en diversas épocas del año, otros colocados en estufas. A continuación va un cuadro con los días que han tardado en nacer los miracidios, según la temperatura.

Temperatura	Nacimiento del Miracidio
25 — 31°	9 días
23 — 27°	11 "
24 — 26°	13 "
18 — 26°	17 "
20 — 24°	17 "
11 — 24°	29 "
11 — 20°	40 "
11 — 19°	45 "

Como se puede ver, el desarrollo más rápido se obtuvo con la temperatura ambiente de 25—31°, los miracidios na-

cieron al cabo de 9 días; el más lento a la temperatura ambiente de 11—19°, los miracidios nacieron al cabo de 45 días.

A 37° no observamos nacimiento de miracidios, e igualmente a temperaturas inferiores a 10°; entre los 5—10° el huevo se conserva durante cierto tiempo y puede evolucionar si la temperatura sube. Este fenómeno también es indicado por Monning (6).

Como dicen diversos autores, observamos que la luz fuerte provoca el nacimiento en masa de los miracidios.

Monning (6), considera que el huevo de *F. hepática* es poco exigente en oxígeno, por lo cual es capaz de desarrollarse en aguas profundas. Colocamos huevos de *F. hepática* bajo una capa de agua de 14 cms. de altura y otros bajo una capa de 1½ cm. de altura y los dejamos a la temperatura ambiente del laboratorio que fluctuó entre 18—26°; en ambos grupos de huevos los miracidios nacieron al cabo de 17 días, por lo tanto los huevos de este sistema pueden desarrollarse en aguas más o menos profundas, a diferencia de los huevos de muchos nemátodos que requieren capas de agua muy delgadas.

VITALIDAD DE LOS MIRACIDIOS.— Los miracidios, mantenidos en temperaturas que fluctúan entre 10—13°, conservan su vitalidad durante unas 24 horas, después empieza a decrecer rápidamente y pudimos observar que al cabo de 20 horas todos han muerto. Entre 18—26° conservan su vitalidad durante unas 12 horas. A una temperatura constante de 27°, la vitalidad empieza a decrecer rápidamente a las 2 horas y al cabo de 5½ horas, todos han muerto.

Sin indicar temperatura, Thomas, citado por Carpentier (7), dice que el miracidio vive unas 8 horas; Monning considera que vive cerca de 24 horas y unos pocos días si la temperatura es baja.

INFESTACION DE CARACOLES.— Realizamos ensayos de infestación con los siguientes caracoles de agua dulce: *Limnaea viator*, *Planorbis chilensis* y *Chilina fluctuosa*. Debemos agradecer la determinación de dichas especies al Prof. E. Gigoux, del Museo de Historia Natural.

Los caracoles se criaron en recipientes con agua y pasto y se utilizó sólo a sus descendientes, obtenidos en el laboratorio, para evitar todo error por infestaciones contraídas naturalmente.

Los caracoles, puestos en agua con miracidios, se dejaban a la temperatura ambiente.

INFESTACION DE LIMNAEA VIATOR D'OREIGNY.—

Las *L. viator* fueron recolectadas por nosotros en Macul y Bucelemu.

El miracidio, puesto en el agua en que están las limneas, se dirige rápidamente hacia estos gasterópodos y moviendo con agilidad los cilios, perfora al caracol a nivel de sus partes blandas, la limnea al sentirse atacada empieza a caminar. Al cabo de 2 horas el miracidio ha penetrado totalmente en el caracol. A los 9 días es fácil observar esporocistos, al mes aparecen redias y poco a poco se van diseñando las cercarias, las que abandonan el caracol entre los 37—60 días. La evolución en 37 días se observó en limneas infestadas a fines de Octubre, la evolución es más lenta en las épocas frías. El frío no tan sólo retarda, sino que también parece impedir la evolución de la *F. hepática* en el huésped intermediario, ya que en una experiencia iniciada el 15 de Junio de 1942, el agua que contenía limneas infestadas, se congeló 5 días más tarde y la temperatura siguió bastante baja durante el mes de Julio; examinados minuciosamente estos caracoles durante más de dos meses, no se encontró en ellos ninguna forma larvaria de *F. hepática*.

EXPERIENCIAS CON PLANORBIS CHILENSIS NOBIS.—

Los planorbis con los cuales se experimentó, proceden unos de Salamanca, donde fueron recogidos por el Bacteriólogo del Instituto de Investigaciones Veterinarias, Dr. R. Abel y otros de Bucelemu, recolectados personalmente por nosotros.

Los planorbis procedentes de Salamanca estaban parasitados con cercarias que no correspondían a la cercaria de la *F. hepática*, algunos pertenecerían a los trematodos de la familia Strigeidae, parásitos de las aves.

Al poner en contacto miracidios con *Pl. chilensis*, observamos que giraban sobre ellos igual que sobre la *L. viator*, pero pronto los abandonaban. En los numerosos ensayos de infestación, no observamos nunca en los *P. chilensis*, el desarrollo de las formas larvarias de la *F. hepática*.

EXPERIENCIAS CON CHILINA FLUTUOSA SOWERBY.—

Igual que en el caso anterior, no se consiguió desarrollar la forma larvaria de la *F. hepática* en estos caracoles, aunque se realizó una sola experiencia, pues, por un accidente, murieron todos.

Varios otros ensayos de crianza de *Ch. fluctuosa*, recogidos por nosotros en aguas dulces de la región de San Antonio y Cartagena, han sido infructuosos. Esperamos conseguir en otra oportunidad su reproducción en el laboratorio, para establecer definitivamente si este caracol es o no huésped intermediario de la *F. hepática*, aunque por la única observación que pudimos realizar continuada durante un mes y medio, no se encontró en ellos ninguna forma larvaria del distoma y nunca vimos penetrar un miracidio en un caracol de esta especie, siempre giraban un momento sobre el molusco, para en seguida abandonarlo definitivamente.

METACERCARIAS.— Las cercarias, al abandonar la limnea, se dirigen nadando hacia el pasto, se adhieren a las hojas que hay a nivel del agua, pierden pronto la cola y se transforman en metacercarias. Esta transformación se realiza de diez minutos a 2 horas. Las metacercarias se forman no tan sólo en el pasto, sino sobre cualquier objeto, incluso las hemos visto formarse sobre el vidrio.

Las metacercarias se presentaban como pequeños granitos, en término medio miden unos 200 micrones de diámetro, de color blanco amarillento, por lo general pegadas a la cara inferior de las hojas de pasto, a nivel del agua, aunque más tarde, por efecto del crecimiento de las hierbas, se las encuentra a mayor altura. Con la lupa se ve que son como segmentos de esfera, abollados en el centro, muchas de ellas, como una pelota de goma; su superficie es ligeramente granulosa, son de consistencia dura, resistente, aunque se desprenden fácilmente del pasto, lo cual explica la facilidad con que puede realizarse la infestación del huésped definitivo por medio del agua de bebida.

INFESTACION DEL HUESPED DEFINITIVO.— Elegimos conejos del criadero del Instituto de Investigaciones Veterinarias, en los cuales nunca hemos constatado distomatosis contraída naturalmente, para mayor seguridad nos cercioramos por el examen coprológico de la ausencia de huevos de distomas y los dejamos con conejos testigos, sometidos al mismo régimen de alimentación. En las necropsias ningún conejo testigo presentó distomatosis.

Los conejos fueron infestados con metacercarias formadas en el pasto o en el fondo de las cápsulas de Petri.

A los 30 días encontramos en el hígados distomas de

3-4 mm. de largo por 1.1|2-2 mm. de ancho. Los distomas adultos se constataron al cabo de 54-56 días.

Se le hizo ingerir una limnea que estaba eliminando cercarias a un cabrito de 3 meses de edad y otra a un conejo, ambos negativos a distomatosis por el examen coprológico. Al cabo de 60 días fueron sacrificados; en el hígado del cabrito se encontraron 3 distomas adultos y en el del conejo no se encontraron. Con esta experiencia queríamos averiguar si era posible la infestación de los animales por la ingestión de limneas con cercarias; según Carpentier (7), las opiniones de los autores están divididas respecto a esta materia; nosotros nos inclinamos a pensar que no es posible la infestación en esta forma, basándonos en el caso negativo del conejo, y la escasa cantidad de distomas que se desarrollaron en el cabrito, ya que por ser una limnea altamente infestada, debieron haberse desarrollado una gran cantidad de distomas, es muy probable que los 3 distomas encontrados deban su origen a cercarias enquistadas en la concha del caracol.

LIMNANEA VIATOR.— Con-ickramor que la *L. viator* es huésped intermediario de la *F. hepática* en nuestro país, basándonos en que hemos conseguido infestarla experimentalmente y por haber encontrado algunas de las formas larvarias del trematodo que nos preocupa en limneas recogidas en el campo.

No podemos asegurar que sea el único huésped intermediario, es necesario, para ello, agotar el estudio de otros caracoles de agua dulce que tal vez existen en nuestro territorio, lo cual se podría realizar con el concurso de nuestros colegas. De todos modos, creemos que es el huésped intermediario más frecuente.

La *L. viator* existiría en todo nuestro territorio. El Dr. Salgado, Ayudante de la Sección Parasitología, tuvo oportunidad de encontrarla en la isla de La Mocha. La ausencia de distomatosis en Magallanes, nos hace pensar que posiblemente no exista la *L. viator* en esa zona, o bien quizás las condiciones climáticas no permiten el desarrollo de las formas larvarias de *F. hepatica*.

Aunque a veces existen en grandes cantidades, las limneas pasan desapercibidas frecuentemente, aun para la gente de campo, porque se confunden con el fondo de las aguas donde viven, y por su reducido tamaño, miden entre 7 a 10 mm. de largo.

Ha sido encontrada por nosotros en los cursos rápidos de agua, acequias de riego, acumuladas en los reman-

sos; en las aguas cristalinas, de corriente lenta o acumulaciones de agua que se renuevan lentamente ("vertientes", "puquios", etc.), en fin en todas las aguas donde no hay gran cantidad de materias orgánicas en descomposición. Sólo la hemos encontrado en las aguas poco profundas. En una ocasión fueron halladas en un potrero de riego, depositadas ahí, posiblemente, por las aguas de una acequia que las contenía en gran cantidad.

En las crianzas experimentales hemos observado que resiste al frío, aun cuando el agua se congele.

Los huevos, que forman una masa gelatinosa, han dado nacimiento a caracoles en unos 7 días, los cuales alcanzan su estado adulto en más o menos dos meses. Se multiplican abundantemente, sobre todo en primavera.

Para destruir los caracoles de agua dulce, se han recomendado diversas sustancias, entre ellas, la que mejores resultados ha producido es el sulfato de cobre. En Estados Unidos, donde los huéspedes intermediarios de la *F. hepatica* son los caracoles llamados *Galba bulimoides*, *G. ferruginea*, *G. cubensis* y *Pseudosuccinea columella* (s), se ha visto que es suficiente para matarlos una solución al uno por un millón de sulfato de cobre, en el laboratorio; pero en el campo es necesario aumentar la concentración llegando a veces hasta al 1x100,000, esta concentración no ofrece ningún peligro para el ganado ni para la vegetación, sólo son destruidos los musgos y algas y a veces los peces (9), (10), (11).

En las comprobaciones realizadas por nosotros, hemos observado que la *L. viator* muere al cabo de 3 horas en una solución al uno por un millón de sulfato de cobre en agua potable, en cambio, resisten 24 horas si se hace una solución al 1 x 500,000 con el agua donde habitualmente se las cría. En el campo mismo, una solución al 1 x 200,000 (aproximadamente), mató en 24 horas las limneas de una acequia con regular cantidad de materia orgánica en suspensión.

El sulfato de cobre, en la proporción empleada para destruir limneas, también destruye las formas libres, miracidios y cercarias, de la *F. hepatica*, en un corto tiempo.

Las soluciones de salitre potásico al 1% matan la *L. viator* en 2.1/2 horas, las cercarias y miracidios mueren también en un tiempo más o menos breve. Las soluciones más diluidas no producen ningún efecto sobre las limneas.

CONCLUSIONES:

1). La *limnæa viator* es en nuestro país huésped intermediario de la *F. hepatica*;

2). El *Planorbis chilensis* no es huésped intermediario de la *F. hepatica*.

3). En las investigaciones realizadas por nosotros, la evolución total de la *F. hepatica* ha demorado entre 100-161 días. El miracidio nace al cabo de 9-45 días. La cercaria nace 27-60 días después de la infestación del caracol. La metacercaria se transforma en distoma adulto al cabo de 54-56 días.

4). La temperatura es un factor importante en la evolución de la *F. hepatica* en su forma larvaria. Las bajas temperaturas retardan el desarrollo del huevo.

5). El sulfato de cobre es altamente eficaz para destruir la *L. viator*.

6). El salitre potásico sólo mata las *L. viator* en soluciones concentradas.

APENDICE

Consideramos que el sulfato de cobre es un arma poderosa para combatir la distomatosis y, por lo tanto, su empleo debe difundirse. Hasta ahora, por lo general, la única medida que se adopta contra este parasitismo, es la administración de tetracloruro de carbono; este antihelmíntico, muy eficaz contra la *F. hepatica*, no basta para hacer desaparecer la enfermedad en una zona, ya que después de su administración, el ganado puede volver a contraer la distomatosis. Además, todos conocemos los peligros que presenta esta droga, especialmente en el ganado vacuno.

Por estas razones, debe darse importancia a las medidas profilácticas, tendientes a impedir el desarrollo del huevo de la *F. hepatica* y, sobre todo de su huésped intermediario, la *L. viator*, con lo cual se rompe el ciclo evolutivo de este parásito.

Entre las medidas aconsejables, podemos mencionar: la crianza de los animales en los terrenos secos, drenar o cercar los terrenos húmedos, hacer las acequias de paredes lisas, sin remansos. Estas medidas, a menudo resultan impracticables, por ejemplo en la cordillera de la costa.

la crianza de ovejas se hace siempre en lomas bastante secas, pero existen quebradas o vertientes donde baja el ganado a beber; en estas aguas se crían en abundancia las limneas, que fácilmente se infestan por la acumulación de excrementos de los animales, constituyendo por lo tanto, focos de infestación que no se pueden suprimir, por lo menos en forma económica.

Es por esto que la profilaxis más adecuada de la distomatosis consiste en la destrucción del huésped intermedio, por medio de sustancias químicas y hasta ahora, la sustancia más indicada por su bajo costo y alta toxicidad contra las limneas, es el sulfato de cobre.

La manera de aplicar el sulfato de cobre varía un tanto según los lugares donde se crían las limneas. En las corrientes rápidas de agua, se recomienda colocar saquitos con esta sal y hacer de trecho en trecho, represas o "tacos" para que el nivel del agua alcance a los caracoles colocados en las paredes de las acequias; 24 horas más tarde se observa su efecto sobre las limneas, generalmente basta con una sola aplicación; mientras ésta se efectúa, es prudente impedir que los animales beban el agua. En las corrientes lentas de agua o en las aguas detenidas, se hace un cálculo lo más aproximado posible del volumen de agua y se le agrega el sulfato de cobre pulverizado de manera de formar una solución que varía entre 1 x 100,000 a 1 x 200,000; para facilitar la operación, el sulfato de cobre se mezcla con 4-8 partes de arena y se aplica "al voleo". Si existen limneas sobre el pasto, la mezcla de sulfato de cobre y arena antes indicada se esparce sobre el pasto en la proporción de 10-30 kgs. por hectárea.

El sulfato de cobre se usa en primavera y a fines de verano o principios de otoño, repitiendo su aplicación un mes más tarde, para destruir las limneas que han escapado a primera aplicación.

El empleo del sulfato de cobre en la primavera tiene por objeto destruir los caracoles que se empiezan a multiplicar y que fácilmente se infestan, ya que en esta época es cuando se desarrolla con mayor facilidad el huevo de la *F. hepatica*; debemos tener presente que, además, el sulfato de cobre destruye rápidamente los miracidios y cercarias.

A fines de verano o principios de otoño, el caudal de las aguas disminuye considerablemente y, por lo tanto, es más fácil actuar con el sulfato de cobre sobre las limneas agrupadas en espacios muy reducidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—**Neveu Lemaire.** — Traité d'Helminthologie Médicale et Vétérinaire, 1936.
- 2.—**R. Blanchard.** — Traité de Zoologie Médicale, 1889.
- 3.—**E. Brumpt, J. Velásquez, H. Ucros y L. Ch. Brumpt.** — Découverte de l'hôte intermédiaire *Limnaea bogotensis* Pilsbry, de la grand douve *F. hepatica* en Colombie.
Annales de Parasitologie Humaine et Comparée. T. XVII. 1939.
- 4.—**Germain y Neveu Lemaire.** — Essai de Malacologie Médicale. — Annales de Parasitologie Humaine et Comparée. T. IV, 1926.
- 5.—**César Pinto.** — Zoo-parasitos de interesse Medico e Veterinario. 1938.
- 6.—**Mönnig.** — Veterinary Helminthology and Entomology. 1938.
- 7.—**Carpentier.** — La douve hépatique. Evolution et résistance. Cahiers de Médecine Vétérinaire. T. X. 1932.
- 8.—**Freeborn y Stewart.** — The nematodes and certain other parasites of sheep. 1937.
- 9.—**Hall.** — Control of Animal Parasites. 1936.
- 10.—**Hall, Dikman y Wright.** — Parasites and parasitic diseases of sheep. 1940.
- 11.—**Dikman.** — Internal parasites of cattle. 1942.

SOBRE LA IMPORTANCIA ECONOMICA DE LAS ESPECIES CHILENAS DEL GENERO DICHROPLUS STAL (ORTH. ACRID. CYRTACANTH). CON ALGUNAS CONSIDERACIONES ACERCA DE SU BIOGEOGRAFIA

Por el

Dr. José LIEBERMANN, Buenos Aires
Miembro correspondiente de la Sociedad Chilena
de Historia Natural

En el VII Congreso anual de la G. A. E. A., realizado en 1942 en Buenos Aires, presentó el autor un traba-