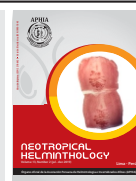




Neotropical Helminthology



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

INFECTION OF *LYMNAEA* BY *FASCIOLA HEPATICA* (LINNAEUS, 1758) IN THE PROVINCE OF PATAZ, PERU AND IDENTIFICATION OF PLANTS ASSOCIATED WITH ITS BIOTOPES

INFECCIÓN DE *LYMNAEA* POR *FASCIOLA HEPATICA* (LINNAEUS, 1758) EN LA PROVINCIA DE PATAZ, PERÚ E IDENTIFICACIÓN DE PLANTAS ASOCIADAS A SUS BIOTOPOS

César Jara-Campos^{1,*}; Hermes Escalante-Añorga¹; Fiorella Siancas-Ruiz¹;
Wilson Casana-Mantilla¹ & Adderly Benites-Murrieta¹

¹Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n. Trujillo. Perú.
Telefax 474835

Correos: cjara@unitru.edu.pe / hescalante@unitru.edu.pe / fiore_ruiz_19@hotmail.com /
casana_wm@hotmail.com / abenites@unitru.edu.pe

*Corresponding author: cjara@unitru.edu.pe

ABSTRACT

The freshwater pulmonate snails of the genus *Lymnaea* Lamarck, 1799 (Mollusca: Basommatophora) act as intermediate hosts in the biological cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), etiological agent of fascioliasis, an emerging zoonotic disease of great importance due to the negative impact on livestock production and on the health of the human population; however, important epidemiological aspects have only been partially investigated, among them, the distribution and magnitude of the infection of the intermediate host snail and the registration of plant species associated with the biotopes of these gastropods. In the present investigation it was proposed: (i) to determine the percentage of parasitism by *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 in *Lymnaea* Lanmarck, 1799 (intermediate host) in an Anexo of six districts (Buldibuyo, Chillia, Huaylillas, Taurija, Tayabamba and Urpay) of the Province of Pataz, Region La Libertad-Peru, in the winter and spring seasons of 2016, and (ii) identify the species of plants present in the environments where *Lymnaea* and *F. hepatica* are observed. Both the snails and the plants were identified using their morphological characteristics and the search for rediae and cercariae larval forms of the parasite was done using the "squash" technique. *Lymnaea viatrix* d'Orbigni, 1835 showed higher infection frequencies in the winter season in the Buldibuyo district (39.6%) and in the spring season in the Huaylillas district (49.1%). It was also found that infection frequencies, in general, were higher in spring than in winter. Nine species of plants were identified in the areas where the snail was infected with *F. hepatica*. These are: *Adiantum* sp. (maidenhair), *Lactuca sativa* Linnaeus (lettuce), *Lemna minor* (L.) Griff. (duckweed), *Medicago sativa* Linnaeus (alfalfa), *Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov. (kikuyu grass), *Polygonum punctatum* (Elliott) Small (sweet catay), *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (watercres), *Thelypteris* sp. (fern) and *Verbena litoralis* Kunth (verbena).

Keywords: *Fasciola hepatica* – *Lymnaea viatrix* – Pataz – Peru – plants

RESUMEN

Los caracoles pulmonados de agua dulce del género *Lymnaea* Lamarck, 1799 (Mollusca: Basommatophora) actúan como hospederos intermediarios en el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) agente etiológico de la fascioliasis, enfermedad zoonótica emergente de gran importancia por el impacto negativo en la producción pecuaria y en la salud de la población humana; sin embargo, algunos aspectos epidemiológicos importantes han sido parcialmente abordados, entre ellos, la distribución y magnitud de la infección del caracol huésped intermediario y el registro de las especies de vegetales asociadas a los hábitats de estos gasterópodos. En la presente investigación se propuso (i) determinar el porcentaje de parasitismo por *F. hepatica* en *Lymnaea* Lanmarck, 1799 (hospedero intermediario) en un Anexo de seis distritos (Buldibuyo, Chillia, Huaylillas, Taurija, Tayabamba y Urcay) de la Provincia de Pataz, Región La Libertad-Perú, en las estaciones de invierno y primavera del 2016, y (ii) identificar a las especies de vegetales de tallo corto presentes en los ambientes de captura de *Lymnaea* positivo a la infección por *F. hepatica*. Tanto los caracoles como los vegetales fueron identificados en base a sus características morfológicas y la búsqueda de redias y cercarias del parásito se hizo utilizando la técnica de aplastamiento y posterior disección de los caracoles. Se identificó a *Lymnaea viatrix* d'Orbigni, 1835 como única especie presente, con mayores frecuencias de infección en la estación de invierno en el distrito de Buldibuyo (39,6%) y en la estación de primavera en el distrito de Huaylillas (49,1%). También se encontró que las frecuencias de infección, en general, fueron más altas en primavera que en invierno. Se identificó a nueve especies de plantas en las zonas donde se detectaron al caracol infectado naturalmente con *F. hepatica*. Estas son: *Adiantum* sp. (culantrillo), *Lactuca sativa* Linnaeus (lechuga), *Lemna minor* (L.) Griff. 1851 (lenteja de agua), *Medicago sativa* Linnaeus (alfalfa), *Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov. (pasto kikuyu), *Polygonum punctatum* (Elliott) Small (catay dulce), *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro), *Thelypteris* sp. (helecho) y *Verbena litoralis* Kunth (verbena).

Palabras clave: *Fasciola hepatica* – *Lymnaea viatrix* – Pataz – Perú – vegetales de tallo corto

INTRODUCCION

Los caracoles pulmonados de agua dulce del género *Lymnaea* Lamarck, 1799 (Mollusca: Basommatophora) actúan como hospederos intermediarios en el ciclo biológico de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), agente etiológico de la fascioliasis en diferentes partes del mundo (Mas-Coma *et al.*, 2001, 2009, 2018). En países de clima templado, dentro de ellos el Perú, esta zoonosis disminuye la producción pecuaria de ovinos y vacunos, los principales huéspedes definitivos; en humanos, principalmente niños, representa una enfermedad emergente y desatendida distribuida en 21 de los 24 departamentos (Esteban *et al.*, 2002; Blancas *et al.*, 2004; Marcos *et al.*, 2005; Marcos *et al.*, 2007; Espinoza *et al.*, 2010; Rinaldi *et al.*, 2012).

La infección con *F. hepatica* ocurre cuando los hospederos definitivos ingieren vegetales de tallo

corto infestados con metacercarias viables del parásito; de éstas se liberan los juveniles en el duodeno los cuales atraviesan la pared intestinal y acceden al canalículo biliar (en cinco a seis semanas), donde se establecen y adultecen (maduros, ovipositan unos 20.000 huevos por día); los huevos se evacúan al medio ambiente con las heces en las áreas de pastoreo y en pequeños cuerpos de agua; en este lugar, dentro del huevo, se forman los miracidios los cuales se liberan y movilizan en busca de un caracol limnaeido, su huésped intermediario, el cual libera, finalmente, a las cercarias móviles que buscan un sustrato, usualmente un vegetal de su entorno porque no nadan grandes distancias, al cual se adhieren y se convierten en metacercarias (Mas-Coma *et al.*, 1999; Mas-Coma *et al.*, 2005; Bargues *et al.*, 2007; Alba *et al.*, 2016). Aunque los ovinos y bovinos desempeñan un importante papel como reservorios, los estudios de transmisión indican que las metacercarias de diferentes orígenes presentan infectividad similares (Caron *et al.*,

2008; Rondelaud *et al.*, 2011; Mas-Coma *et al.*, 2018).

Se sabe que el clima templado, humedad constante, presencia de vegetales que proveen de sombra y concentraciones de sal adecuadas son las condiciones óptimas para el desarrollo y sobrevivencia de caracoles limnaeidos; por lo tanto, la distribución, tanto en el espacio (latitudinal, longitudinal y altitudinal) como horaria (estacional, anual) de la fascioliasis depende de la presencia y la dinámica de la población de tales gasterópodos (Valero *et al.*, 2000, 2012; Rondelaud *et al.*, 2011; Bargues *et al.*, 2011). En América, los Lymnaeidae del grupo *Galba/Fossaria*, tales como: *Lymnaea viatrix* d'Orbigni, 1835, *L. diaphana* King, 1830, *L. cubensis* Pfeiffer, 1839, *L. cousini* Jousseume, 1887, *L. rupestris* Paraense, 1982 y *L. columella* Say, 1817 son las especies registradas naturalmente infectadas por formas larvianas de *F. hepatica*, de las cuales, la última especie está presente en todos los países de la zona neotropical (Alba *et al.*, 2016; Bargues *et al.*, 2007, 2011; Bargues *et al.*, 2012).

En el Perú, la infección por *F. hepatica* depende de la presencia de caracoles del grupo *Galba/Fossaria*, que presentan dos modelos de transmisión dependientes de la altitud: en Puno (altiplano con altitud homogénea), por ejemplo, que presenta aguas permanentes todo el año, la transmisión es también permanente; sin embargo, en Cajamarca o el Valle Mantaro (altitud heterogénea), la transmisión es estacional: más elevada cuando el clima es más cálido (Valero *et al.*, 2012; Bargues *et al.*, 2012). En Cajamarca, zona endémica del norte del Perú, se ha registrado a los caracoles *Galba truncatula* Muller, 1774, *Lymnaea neotropica* Artigas, Mera y Sierra, Pointier & Mas-Coma, 2007 y *L. schirazensis* Kuster, 1862 como hospedadores de *F. hepatica*; sin embargo, en el departamento de La Libertad, colindante a Cajamarca y con valles ecológicamente semejantes y donde se ha registrado elevados porcentajes de infección por *F. hepatica* en ovinos y vacunos (los principales reservorios) no se tiene información actualizada qué especie(s) de caracoles se hallan presentes (Grados & Ibáñez, 1971; Londoño *et al.*, 2009; Bargues *et al.*, 2012, Valero *et al.*, 2012).

Así como la presencia de un caracol limnaeido hospedero intermediario es un factor crucial en el desarrollo del ciclo biológico de *F. hepatica* en una determinada zona, la presencia de vegetales en los biotopos de estos gasterópodos también lo es (Mas-Coma *et al.*, 2005). Se sabe que los limnaeidos prefieren aguas estancadas o poco corrientes y que las cercarias que emergen de los caracoles presentan poca capacidad nadadora y no tienen preferencia por una u otra planta, por lo tanto, las plantas seleccionadas son de diferentes especies en cada zona. Se han identificado a más de 50 especies de plantas en países donde la fascioliasis es una epidemia, entre las cuales: *Nasturtium officinale* W.T. Aiton, *Hydrocotyle umbellata* Linneo, *Pennisetum clandestinum* Hochst, *Castilleja communis* Kunt, *Calceolaria mexicana* Benth, *Cuphea racemosa* Browne, *Galinsoga ciliata* Blake, *Eleocharis elegans* (Kunth), y *Juncus effusus* Linneo son consideradas las más frecuentes (Valero *et al.*, 2000; Rondelaud *et al.*, 2011). Sin embargo, el hallazgo de las metacercarias en las especies de vegetales es una tarea difícil y en el Perú se ha dado a conocer que emolientes de consumo humano a base de alfalfa y otros vegetales presentaron metacercarias de *F. hepatica* (Reynoso *et al.*, 2014), pero no se sabe cuáles especies transmiten a los animales, principales reservorios.

Teniendo en cuenta que: (i) la fascioliasis es una enfermedad importante en animales de producción y en el hombre por los efectos negativos en la salud y producción, (ii) no se conoce a la especie(s) de caracoles limnaeidos hospederos intermediarios de *F. hepatica* en Patatez (La Libertad) donde se ha registrado elevado parasitismo en ovinos y vacunos (Jara-Campos *et al.*, 2018), ni la magnitud de infección y (iii) que tampoco se conoce a las especies de plantas en los biotopos de los caracoles, se llevó a cabo una investigación dirigida a determinar a la especie(s) de Lymnaeidos y el porcentaje de parasitismo por *F. hepatica* en las estaciones de invierno y primavera (época no lluviosa), en un anexo de los distritos de Buldibuyo, Chillia, Huaylillas, Taurija, Tayabamba y Urcay, Provincia de Patatez, Región La Libertad-Perú, entre julio y diciembre del 2016 e identificar a las especies de vegetales de tallo corto presentes en los ambientes de captura de Lymnaeidos positivos a la infección por *F. hepatica*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación, descriptivo-transversal, se realizó en la Provincia de Pataz (Región La Libertad, Perú) ubicada en la Cordillera de los Andes. Limita por el norte con la provincia de Bolívar, por el este con el departamento de San Martín, por el sur con la provincia de Marañón (Huánuco) y por el oeste, con las provincias de Pallasca, Sihuas (Ancash), Santiago de Chuco y Sánchez Carrión (La Libertad). Presenta relieve accidentado y una superficie de 4 226,53 km². El clima es variado, las altitudes están comprendidas entre los 700 y 4600 msnm (Tabla 1) y la temperatura entre 2°C y 20°C (promedio anual de 11°C). En la primera etapa de estudio (julio a setiembre) no se presentan lluvias y en la segunda (octubre a diciembre) aparecen las lluvias que van aumentando (GR La Libertad, 2019).

Pataz se divide en 13 distritos y cada distrito en Anexos (a veces numerosos) que son pequeños poblados con casas dispersas (sin formar conglomerados), con actividad económica básicamente agrícola y adicionalmente pecuaria; el ganado ovino y vacuno son las especies predominantes (GR La Libertad, 2019) y son criados tradicionalmente (es dejado en campos de pastoreo en el día y en el corral cerca de las casas por la noche). Para la investigación se tomó en cuenta a un Anexo por distrito (Tabla 1) que cumplieron las siguientes criterios de inclusión: clima templado y vegetación herbácea perenne, presencia de ganado ovino y/o vacuno positivos a la infección por *F. hepatica* determinado por la presencia de huevos en heces en una investigación anterior (Jara-Campos *et al.*, 2018) y presencia de acequias, puquios o charcos con humedad eventualmente del 100%.

Las zonas de recolección de gasterópodos fueron puquios, charcos, pequeños reservorios de agua donde no transcurría el agua rápidamente y acequias. La muestra no es representativa, su elección estuvo relacionada con los biotopos de campos de pastoreo donde se registró positividad a la infección por *F. hepatica* en vacunos y ovinos.

Recolección, transporte y determinación taxonómica de *Lymnaea*

En cada Anexo de los siete distritos donde se

encontraron ovinos y/o vacunos infectados naturalmente por *F. hepatica* se recolectaron aproximadamente 250 especímenes de gasterópodos (muestra no probabilística) en los campos de pastoreo, específicamente en charcos, “ojos” de agua, acequias y abrevaderos. La recolección se hizo manualmente con ayuda de pinzas luego de remover raíces y piedras en los lugares de captura; los ejemplares recolectados se depositaron en cubetas de plástico, de 16 x 9 x 6 cm, en los que se acondicionó un ambiente similar al natural a fin de que se mantengan vivos (Hurtado *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2002; Caron *et al.*, 2008). Los depósitos de plástico, luego de que fueron convenientemente rotulados, se colocaron en “coolers” para su traslado al Laboratorio de Helminthología Parasitaria de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

De los 250 caracoles recolectados en cada Anexo, 50 fueron utilizados para medir la concha, 50 para observar el aparato reproductor y rádula, y los demás para determinar su parasitismo por formas larvarias de *F. hepatica*. La identificación de los caracoles como pertenecientes a la Familia Lymnaeidae se realizaron “*in situ*” en base a sus características morfológicas: el tamaño pequeño, la abertura grande y el “cono” poco desarrollado*. Para la determinación de la especie los caracoles fueron colocados en láminas portaobjetos para ser observados en un estereoscopio Carl Zeiss con aditivo micrométrico en uno de los oculares: se midió la concha (longitud, ancho, tamaño de la última espira y de la abertura) y se observó la forma y número de circunvoluciones*; luego, se adicionó dos gotas de solución salina fisiológica y se hicieron disecciones con ayuda de estiletes a fin de extraer el aparato genital masculino y la rádula, los cuales se examinaron siguiendo protocolos estandarizados (Tantaleán & Huisa, 1976; Vivar *et al.*, 1994; Vásquez-Perera & Sánchez-Noda, 2015).

Recolección, transporte e identificación de plantas de tallo corto

Se recolectaron los ejemplares de vegetales de tallo corto íntegros de cada lugar donde se obtuvieron los ejemplares de *Lymnaea* positivos a la infección por formas larvarias de *F. hepatica*. El ámbito de recolección correspondió a la zona de vegetales dependientes de charcos, “ojos” de agua, acequias y abrevaderos (aproximadamente 1 m alrededor).

La técnica de recolección fue la propuesta por Mostacero *et al.* (2000) denominada “clásica”, que consiste en: la extracción manual y arreglo adecuado en prensas botánicas para su adecuado transporte y conservación. Las prensas fueron trasladadas al laboratorio para su codificación y posteriormente, fueron determinadas mediante claves taxonómicas propuestas por Mostacero & Mejía (1993) y verificadas en el Herbario Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

Parasitismo de los caracoles por larvas de *Fasciola hepatica*

Cada caracol elegido para la búsqueda de formas lavarias fue analizado mediante la técnica de aplastamiento: se presionó suavemente con el pulgar entre el porta objeto y el cubre objeto con el fin de que haya una disociación y extensión del órgano o tejido; luego, la laminilla fue retirada, se agregó una o dos gotas de solución salina fisiológica y, con ayuda de un estereoscopio, se hicieron disecciones completas de las estructuras internas del caracol con ayuda de estiletes. Finalmente, se colocó un laminilla y se observó al microscopio para detectar formas evolutivas de *F. hepatica*. Se tomó como caso positivo si se observaron una o más de las siguientes formas evolutivas: redias, cercarias o metacercarias, las cuales fueron identificadas con ayuda de la clave propuesta por Malek (1980).

Análisis estadístico

Los resultados de evaluaciones de las especies de caracoles fueron procesados mediante un porcentaje de parasitismo positivo y negativo de cada zona. La comparación estadística de las variables categóricas se realizó con el test de Chi-cuadrado, con un valor de nivel de significancia de $p < 0,05$, a fin de determinar la asociación de las frecuencias de la infección entre los lugares de procedencia de los caracoles.

Aspectos éticos:

El proyecto correspondiente ha sido aprobado por La Comisión de Ética de la Facultad de Ciencias Biológicas (acta de reunión N° 002-2015 acordó que el Proyecto Canon N° 004-2013 reúne las consideraciones éticas establecidas en el Reglamento del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Nacional de Trujillo por RCU N° 268-2012/UNT).

RESULTADOS

Se encontró una sola especie: *Lymnaea viatrix* d'Orbigni, 1835, cuyas características morfológicas son: concha con la última vuelta muy larga, tamaño (promedio en mm), ancho 1,1, largo 5,1 y abertura 0,7 mm; circunvoluciones, de forma poco curvada y con 4,3 vueltas (Fig. 1). El complejo penial es elongado, con la vaina delgada y de dos a tres veces de menor grosor que el prepucio. La fórmula radular es 28-1-28, con diente central monocúspide, dientes laterales bicúspides y los intermedios tricúspides.

Se encontró una frecuencia global de infección del caracol *L. viatrix* por larvas de *F. hepatica* de 30,7%; la mayor frecuencia de infección se presentó en el Anexo de Buldibuyo (39,6%) en estación invierno y de Huaylillas (49,1%) en la estación de primavera y la menor, en el Anexo de Tayabamba (22,8%) en primavera y de Chillia (26,9%) en invierno. También se observó que las frecuencias en general fueron mayores en primavera que en invierno (Tablas 2 y 3).

Se encontró vegetales de tallo corto en todos los biotopos investigados y correspondieron a nueve especies, pertenecientes a nueve familias diferentes. Las cuatro más frecuentes, (número de veces encontrada en biotopos diferentes) fueron: *Adiantum* sp., *Lemna minor* (L.), *P. clandestinum* y *N. officinale* (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Uno de los temas poco abordados en las investigaciones sobre fascioliasis en el Perú es el relacionado a conocer la distribución de las especies de caracoles huéspedes intermediarios de *F. hepatica*, aspecto que tiene importancia porque su presencia es considerada como un factor importante en la distribución de este helminto y de la enfermedad que causa y porque las especies de caracoles hospederos intermediarios conforman un grupo de difícil identificación específica. Por ello, se ha implementado técnicas modernas para la identificación, tales como ELISA o PCR (Bargues *et al.*, 2007; Bargues *et al.*, 2012; Alva *et al.*, 2016),

Tabla 1. Distritos y Anexos de la Provincia de Pataz (La Libertad, Perú) elegidos para una investigación sobre la distribución de fascioliasis, su altitud, latitud y longitud georeferencial.

Distritos (Anexo)	Ubicación Geográfica		
	Altitud (msnm)	Latitud Sur	Longitud Oeste
Buldibuyo (Nuevo Porvenir)	3162	08°07'27''	77°23'34''
Chillia (Shacana)	3118	08°07'19''	77°30'45''
Huaylillas	2500	08°11'03''	77°20'30''
Taurija (Huayao)	3111	08°18'12''	77°25'12''
Tayabamba (Allauca)	3203	08°16'21''	77°17'39''
Urpay (Macania)	2688	08°20'36''	77°23'14''

FUENTE: Censo Estadístico La Libertad, INEI, 2012.



Figura 1. Características ecológicas de la zona de estudio (superior izquierda), caracoles *Lymnaea viatrix* y cercarias detectadas en uno de ellos (inferior derecha, 400A). Fotos originales.

lo que está cambiando el conocimiento de las especies existentes. Por ejemplo, clásicamente se ha registrado a *L. viatrix* en Cajamarca y valle del Mantaro, *L. diaphana* King, 1830 en Arequipa, *Pseudosuccinea columella* Say, 1817 en Tingo María, y *Lymnaea cousini* Jousseaume, 1887 también en Arequipa, cuya identificación se basó en criterios morfológicos; sin embargo, en Cajamarca, mediante caracterización molecular, se han identificado a tres especies: *G. truncatula*, *Lymnaea neotropica* y *L. schirasensis*.

Lymnaea viatrix, como en la mayoría de investigaciones, fue identificada en base a las características morfológicas, tales como tamaño de

la concha, tamaño de la abertura, el hecho que la espira final sea de gran tamaño, poco curvada; que la rádula tenga características típicas de la especie. Sin embargo, no existen investigaciones que hayan abordado la intensidad del parasitismo en una determinada zona, aspecto que resulta importante porque permite explicar por qué el hospedero mamífero está igualmente, más o menos infectado en la misma zona; debe tenerse en cuenta que las formas infectantes se generan dentro de los caracoles y su distribución condiciona la distribución del parásito y, con ello, de la fascioliasis (Tantaleán & Huisa, 1976; Vivar *et al.*, 1994; Paraense, 2003; Vásquez-Perera & Sánchez-Noda, 2015).

Tabla 2. Frecuencia de la infección por *Fasciola hepatica* en *Lymnaea viatrix*, en seis distritos de la Provincia de Pataz, La Libertad – Perú, julio a setiembre, 2016.

Distritos (anexo)	Frecuencia		
	N	n	%
Buldibuyo (Nuevo Porvenir)	154	61	39,6 ^a
Chillia (Nunamarca)	157	46	29,3 ^a
Huaylillas	168	59	35,1 ^a
Taurija (Huayao)	140	32	22,9 ^b
Tayabamba (Allauca)	171	39	22,8 ^b
Urpay (Macania)	163	56	34,4 ^a
Total	953	293	30,7

N= número de caracoles analizados vivos de 200 especímenes recolectados, n= número de caracoles infectados por *F. hepatica*, %= porcentaje de frecuencia. Valores con diferente superíndice a lo largo de la misma columna difieren significativamente ($p < 0,05$).

Tabla 3. Frecuencia de la infección por *Fasciola hepatica* en *Lymnaea viatrix*, en seis distritos de la Provincia de Pataz, La Libertad – Perú, octubre a diciembre, 2016.

Distritos (anexos)	Frecuencia		
	N	n	%
Buldibuyo (Nuevo Porvenir)	169	79	46,7 ^a
Chillia (Nunamarca)	156	42	26,9 ^b
Huaylillas	165	81	49,1 ^a
Taurija (Huayao)	158	59	37,3 ^a
Tayabamba (Allauca)	163	44	27,0 ^b
Urpay (Macania)	155	51	32,9 ^b
Total	966	356	36,8

N: número de caracoles analizados vivos de 200 especímenes recolectados, n: número de caracoles infectado por *F. hepatica*, %= porcentaje de frecuencia. Valores con diferente superíndice a lo largo de la misma columna difieren significativamente ($p < 0,05$).

Lymnaea viatrix ha sido la única especie de caracol perteneciente a la familia Lymnaeidae encontrada en la presente investigación y en todas las zonas investigadas que presentan altitudes variables (Tabla 1). Este resultado coincide con investigaciones efectuadas en Cajamarca (Grados & Ibáñez, 1971) y Jauja (Londoño *et al.*, 2009), zonas ecológicamente semejantes, donde se ha registrado la presencia de esta única especie. En otras zonas del Perú, como en Arequipa (Córdova *et al.*, 1974) y Asillo en Puno (Hurtado *et al.*, 1994) también se encontró a *L. viatrix* como especie única. Esto se debería a que el caracol *L. viatrix* tiene una amplia distribución y se ha encontrado, incluso en altitudes de 4000 msnm, aspecto que se atribuye a su gran capacidad de adaptación (Londoño *et al.*, 2009). Sin embargo, según lo propuesto por Bargues *et al.* (2012) quienes identificaron a las especies presentes en Cajamarca (zona ecológicamente muy similar y cercana a la estudiada) esta especie correspondería a *L. neotropica*, por el tamaño características de la concha.

Aun cuando no se puede comparar con investigaciones similares, es de considerar que el porcentaje global de infección por *F. hepatica* en *L. viatrix* es alto; es decir, haber detectado porcentajes de alrededor del 40% es una cifra alta. Este alto porcentaje sustenta los altos porcentajes de ovinos y vacunos parasitados con las formas adultas en la misma zona (datos no publicados), aspecto que tiene relación con la presencia de cuerpos de agua

más o menos numerosos caracterizados por tener vegetación alrededor que sirve de alimento de los ovinos y vacunos, sin embargo, estos cuerpos varían en cuanto a su ubicación y número.

Los anexos de Buldibuyo y Huaylillas obtuvieron las frecuencias de infección más altas de infección de los caracoles por *F. hepatica*, probablemente debido a las características ecológicas. En efecto, se trata de pequeños valles, con vegetación abundante y clima caluroso; se sabe que estos dos factores favorecen la evolución de los caracoles y los vegetales del entorno (Paraense, 2003). Por el contrario en zonas de Chillia, Taurija y Urpay, el clima es más seco y menos lluviosos, lo cual condicionan al desarrollo y crecimiento de los caracoles, presentándose menores frecuencias de infección ($p < 0,05$).

Debe considerarse, sin embargo, que los porcentajes de infección hallados en los caracoles a pesar de ser altos, podrían ser mayores, porque la clásica técnica usada en la presente investigación sólo permite el hallazgo de larvas ya formadas (redias y cercarias); es decir, pasado cierto tiempo de infección. Por ello, la tendencia actual es el uso del PCR, que detecta material genético en etapas tempranas de infección (Bargues *et al.*, 2007). Sin embargo, aun cuando son supuestamente más sensibles que la técnica directa de “squash”, en la presente investigación se ha encontrado porcentajes superiores que cuando se aplican dichas técnicas (5,3 y 3,4%, respectivamente). Ello

Tabla 4. Especies de plantas de tallo corto encontradas en humedales, acequias, charcos y abrevaderos de vacunos y ovinos donde se detectaron al caracol *Lymnaea viatrix* parasitado con formas larvarias de *Fasciola hepatica* en seis distritos de la Provincia de Patatez (La Libertad, Perú), entre Julio y Diciembre, 2016.

Plantas de tallo corto			Distritos					
Nombre científico	Nombre común	Familia	B	Ch	H	T	Ty	U
<i>Adiantum</i> sp.	“culantrillo”	Pteridaceae	x	x	x	x	x	x
<i>Lactuca sativa</i>	“lechuga”	Asteraceae	x		x		x	
<i>Lemna minor</i>	“lenteja de agua”	Araceae	x	x	x	x	x	x
<i>Madicago sativa</i>	“alfalfa”	Fabaceae	x	x	x	x	x	
<i>Pennisetum clandestinum</i>	“pasto kikuyu”	Poaceae	x	x	x	x	x	x
<i>Polygonum punedatum</i>	“catay dulce”	Polygonaceae		x			x	x
<i>Roripa nasturtium</i>	“berro”	Brassicaceae	x	x	x	x	x	x
<i>Thelypteris</i> sp.	“helecho”	Pteridaceae	x		x		x	
<i>Verbena litoralis</i>	“verbena”	Verbenaceae	x		x	x	x	

B= Buldibuyo, Ch= Chillia, H= Huaylillas, T= Taurija, Ty= Tayabamba, U= Urpay, x= presencia de caracoles parasitados.

probablemente se debe a que las zonas de investigación con las técnicas de ELISA o PCR no son endémicas, o se han aplicado en especies de caracol distintas a *L. viatrix* que es considerada las más sensibles o que aún están en estado de estandarización, a diferencia de los que ocurre en los mamíferos. Al mismo tiempo debe considerarse que en realidad el porcentaje de infección en *L. viatrix* en la presente investigación es alto (casi el 50% en algunos distritos), lo cual podría deberse a que son zonas altamente infestadas y que por ello, requieren de control, aspecto que se desprende del hecho de haber detectado parasitismo en vacunos y ovinos por encima del 80% (Jara-Campos *et al.*, 2018). A ello debe sumarse que no son los únicos huéspedes, debe recordarse que *F. hepatica* tiene un amplio rango de hospederos mamíferos, pequeños o de gran tamaño (Mas-Coma *et al.*, 2018).

En comparación con la infestación animal, la fasciolosis humana es poco común; sin embargo, el número de casos reportados y de personas infectadas ha ido aumentando en los últimos 25 años debido a que la infección por *F. hepatica* se adquiere mediante la ingestión de plantas acuáticas de tallos cortos, como berros, hierbas y otros vegetales, que están en contacto con aguas que contienen metacercarias del parásito. La mayoría de las referencias registran que *N. officinale* “berro” es la especie vegetal característica de los humedales donde se encuentra *L. columella* y de mayor distribución, además se registran *Medicago sativa* Linneo “alfalfa”, especialmente en países ubicados en ambientes no tropicales, y otras, como *Salvinia* spp. “salvinia”, *Pistia* spp. “lechuga de agua”, *Pontederia lanceolata* Linneo “buchón” y *Eleocharis* spp. “junco” también registradas como fuentes de infección humana (Mas-Coma *et al.*, 1999; Mas-Coma *et al.*, 2009; Rivera-Jacinto *et al.*, 2010; Reynoso *et al.*, 2014; Mas-Coma *et al.*, 2018); sin embargo, no se ha dado importancia a los que transmiten a los animales. Se sabe que cobayos, que son alimentados con plantas de tallo corto extraídas de zonas semejantes a las investigadas aquí, resultaron infectados con *F. hepatica* (Gamarra, 1996).

Las nueve especies de plantas identificadas (*Adiantum* sp., *L. sativa*, *L. minor*, *M. sativa*, *P. clandestinum*, *P. punctatum*, *N. officinale*, *Thelypteris* sp., *Verbena litoralis* Kunth), serían las

que transmiten la fasciolosis a animales, principalmente ovinos y vacunos, en la zona investigada porque se han obtenido de los mismos ambientes donde se ha encontrado positividad a la infección por *F. hepatica* en los caracoles hospederos intermediarios, incluso algunas de ellas presentaban al caracol en sus raíces. Estas plantas crecen en climas cálidos, templados y fríos y con distribución altitudinal entre 0-4500 msnm (*Adiantum* sp. entre 100-4000 msnm, *L. sativa* entre 0-3000 msnm, *L. minor* entre 100-3800 msnm, *M. sativa* entre 5-4500 msnm, *P. clandestinum* entre 1000-3200 msnm, *P. punctatum* 0-3000 msnm, *N. officinale* entre 50-4000 msnm, *Thelypteris* sp. entre 1000-3100 msnm y *V. litoralis* entre 0-3800 msnm (Mostacero & Mejía, 1993). Estas especies de plantas presentaban hábitats de crecimientos similares: fueron encontradas en charcos, humedales, tierra de cultivos húmedos, bordes de arroyos y bordes de riachuelos, en los casos de *M. sativa* y *L. sativa*, se encontraron en jardines y huertos, hábitats naturales propicias para el desarrollo y crecimiento de dichas especies de vegetales de tallos cortos.

A diferencia de los demás distritos, los distritos de Buldibuyo, Huaylillas y Tayabamba presentan climas similares durante todo el año, son más lluviosos y húmedos, donde frecuentemente se forman charcos, y conjuntamente con las condiciones medioambientales, presencia de terrenos de menor pendiente y con afluentes de agua, por la presencia de ríos, favorecen al crecimiento de vegetales propias de humedales. Es por eso, que en estos tres distritos se determinaron las nueve especies de plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alba, A, Vásquez, AA, Sánchez, J, Fraga, J, Hernández, H, Martínez, E, Marcet, E, Figueredo, M & Sarracent, F. 2016. *Assessment of the FasciMol-ELISA in the detection of the trematode Fasciola hepatica in field-collected Galba cubensis: a novel tool for the malacological survey of fasciolosis transmission*. Parasites & Vectors, vol. 9, 22.
- Bargues, MD, Artigas, P, Mera y Sierra, RL, Pointier, JP & Mas-Coma, S. 2007.

- Characterization of Lymnaea cubensis*, L. viatrix and L. neotropica n. sp., the main vectors of Fasciola hepatica in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Annals of Tropical & Medicine Parasitology*, vol. 101, pp. 621-641.
- Bargues, MD, Gonzalez, LC, Artigas, P & Mas-Coma, S. 2011. A new baseline for fascioliasis in Venezuela: Lymnaeid vectors ascertained by DNA sequencing and analysis of their relationship with human and animal infection. *Parasites & Vectors*, vol. 4, 200.
- Bargues, MD, Artigas, P, Khoubbane, M, Ortiz, P, Naquira, C & Mas-Coma, S. 2012. Molecular characterization of Galba truncatula, Lymnaea neotropica and L. schirazensis from Cajamarca, Peru, and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis. *Parasites & Vectors*, vol. 5, 174.
- Blancas, G, Terashima, A, Maguiña, C, Lujan, L, Alvarez H & Casanova, RT. 2004. Fasciolosis humana y compromiso gastrointestinal: estudio de 277 pacientes en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, 1970–2002. *Revista de Gastroenterología del Perú*, vol. 24, pp. 143-157.
- Caron, Y, Rondelaud, D & Losson, B. 2008. The detection and quantification of a digenean infection in the snail host with special emphasis on Fasciola sp. *Parasitology Research*, vol. 103, pp. 735-744.
- Córdova, E, Náquira, F & Náquira G. 1974. Lymnaea diaphana King, como huésped intermediario Fasciola hepatica en Arequipa. *Archivos Peruanos de Patología & Clínica*, vol. 15, pp. 165-172.
- Cruz, MI, Ibarra, VF, Naranjo, GE, Quintero, MT & Lecumberri LJ. 2002. Identificación taxonómica, estacionalidad y grado de infección con Fasciola hepatica en moluscos huéspedes y no huéspedes intermediarios en el rancho de la Universidad Autónoma de Hidalgo, en Tulancingo, Hidalgo, México. *Veterinaria Mexicana*, vol. 33, pp. 189-200.
- Espinoza, JE, Terashima, A, Herrera-Velut, P & Marcos LA. 2010. Fascioliasis humana y animal: impacto en la economía de las zonas endémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental & Salud Pública*, vol. 27, pp. 604-612.
- Esteban, JG, González, C, Bargues, MD, Angeles, R, Sánchez, C, Náquira, C, & Mas-Coma, S. 2002. High fascioliasis infection in children linked to a man-made irrigation zone in Peru. *Tropical Medicine & International Health*, vol. 7, pp. 339-348.
- Gamarra, RG. 1996. Fasciola infection in guinea-pigs in the peruvian highlands. *Tropical Animal Health & Production*, vol. 28, pp. 143-144.
- Gobierno Regional La Libertad (GR La Libertad) 2019. *Portal Agrario Regional*. www.agrolibertad.gob.pe
- Grados, O & Ibañez, N. 1971. Huésped intermediario de Fasciola hepatica en Cajamarca. *Archivos Peruanos de Patología & Clínica*, vol. 25, pp. 185-190.
- Hurtado C, Huiza & Tartalean, M. 1994. Determinación del huésped intermediario de Fasciola hepatica en la irrigación de Asillo, Azángaro. Puno. *Revista Peruana de Medicina Tropical UNMSM*, vol. 8, pp. 93-94.
- Jara-Campos, C, Escalante-Añorga, H, Casana, W, Davelois-Atac, K & Benites-Murrieta, A. 2018. Prevalencia de fascioliasis en ovinos y vacunos de Pataz, La Libertad, Perú, mediante examen coproparasitológico y Western blot. *Revista de Investigaciones veterinarias del Perú*, vol. 29, pp. 1421-1429.
- Londoño, BP, Chavez, VA, Li, EO, Suares, AF & Pezo, CD. 2009. Presencia de caracoles Lymnaeidae con formas larvarias de Fasciola hepatica en altitudes sobre los 4000 m.s.n.m. en la sierra sur del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, vol. 20, pp. 58-65.
- Malek, EA. 1980. *Snail-transmitted parasitic diseases*. Vol. II. CRC Pres Inc. USA.
- Marcos, L, Maco, V, Florencio, L & Terashima, A. 2005. Altas tasas de prevalencia de fasciolosis humana en el Perú: Una enfermedad emergente. *Revista Peruana de Enfermedades Infecciosas & Tropicales*, vol. 3, pp. 8-13.
- Marcos, L, Maco, V & Terashima, A. 2007. Update on human fascioliasis in Peru: diagnosis, treatment and clinical classification proposal. *Neotropical Helminthology*, vol.

- 1, pp. 85-103.
- Mas-Coma, S, Bargues, MD & Valero, MA. 2018. *Human fascioliasis infection sources, they diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures*. Parasitology, vol. 145. Pp. 1665-1699.
- Mas-Coma, S, Bargues, R, Buchon, J & Franken, PM. 1999. *The Northern Bolivian Altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis*. Tropical Medicine & International Health, vol. 4, pp. 454-467.
- Mas-Coma, S, Funatsu, IR & Bargues, MD. 2001. *Fasciola hepatica and lymnaeids snails occurring at very high altitude in South America*. Parasitology, vol. 123, pp. 115-127.
- Mas-Coma, S, Valero, MA & Bargues MD. 2009. *Fasciola, lymnaeids and human fascioliasis, with a Vitae global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control*. Advances in Parasitology, vol. 69, pp. 141-146.
- Mas-Coma, S, Bargues, MD & Valero, MA. 2005. *Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses*. International Journal of Parasitology, vol. 35, pp. 1255-1278.
- Mostacero, J & Mejía, CF. 1993. *Taxonomía de Fanerógamas Peruanas*. Edit. Libertad EIRL. Trujillo-Perú.
- Paraense, WL. 2003. *Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae of Peru (Mollusca, Basommatomorpha)*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 98, pp. 767-771.
- Reynoso, A, Cuadros, S, Maco, V & Marcos, LA. 2014. *Finding of metacercarias of Fasciola hepatica in emollients for human consumption in an endemic area of Peru*. Peruvian Journal of Parasitology, vol. 22: e18-e22.
- Rinaldi, L, Gonzalez, S, Guerrero, J, Aguilera, LC, Musella, V, Genchi, C & Cringoli, G. 2012. *A one-health integrated approach to control of fascioliasis in Cajamarca Valley, Peru*. Geospatial Health, vol. 6, pp. 67-73.
- Rivera-Jacinto, M, Rodríguez-Ulloa, C, Rojas-Huamán, Y, Valdivia-Meléndez, Y & Saucedo-Durán, T. 2010. *Conocimientos, actitudes y prácticas sobre fascioliasis en madres de una zona rural andina del norte peruano*. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, vol. 27, pp. 59-62.
- Rondelaud, D, Hourdin, P, Vignoles, P, Dreyfuss, G & Cabaret, J. 2011. *The detection of snail host habitats in liver fluke infected farms by use of plant indicators*. Veterinary Parasitology, vol. 181, pp. 166-173.
- Tantaleán, M & Huiza, A. 1976. *Los hospederos intermediarios de Fasciola hepatica en el Perú. Infección experimental de Lymnaea columella say*. Biota, vol. 11, pp. 34-37.
- Valero, MA & Mas-Coma. S. 2000. *Comparative infectivity of Fasciola hepatica metacercariae from isolates of the main secondary reservoir animal host species in the Bolivian altiplano high endemic region*. Folia Parasitologica, vol. 47, pp. 17-22.
- Valero, MA, Pérez-Crespo, I, Khoubbane, M, Artigas, P, Panova, M, Ortiz, P, Maco, V, Espinoza, JR & Mas-Coma, S. 2012. *Fasciola hepatica phenotypic characterization in Andean human endemic areas: valley versus altiplanic patterns analysed in liver flukes from sheep from Cajamarca and Mantaro, Peru*. Infection, Genetics and Evolution, vol. 12, pp. 403-410.
- Vásquez-Perera, AA & Sanchez-Noda J. 2015. *Clave ilustrada y comentada para la identificación de moluscos gasterópodos pluviales de Cuba*. Revista Cubana de Medicina Tropical, vol. 67, pp. 231-243.
- Vivar, GR, Huaman, MP & Larrea CH. 1994. *Clave de identificación para gasterópodos pulmonados dulceacuícolas de importancia médica en el Perú*. Biotempo, vol. 33, pp. 33-35.

Received April 20, 2019.
Accepted August 9, 2019.