

## EPIZOIOLOGIA DE LA DICROCELIOSIS EN LA PROVINCIA DE LEON

Por José del Río Lozano

### I. INTRODUCCION

La dicroceliosis es enfermedad que aparece con carácter enzótico en amplias zonas del mundo y ofrece la peculiaridad de un complejo ciclo biológico, que ha podido dilucidarse al cabo de cerca de siglo y medio de haberse descrito por primera vez el verme (RUDOLPHI 1803) gracias a los trabajos de KRULL y MAPES<sup>75</sup>, <sup>84</sup>, <sup>97</sup> y <sup>102</sup>, SVADZHYAN<sup>156</sup>, <sup>160</sup>, VOGEL y FALCAO,<sup>173</sup>, HOHORST<sup>60</sup> y GRAEFE,<sup>61</sup> GROSCHAFT,<sup>52</sup> HOHORST y LAMMLER,<sup>62</sup>

En <sup>97</sup>, <sup>98</sup>, <sup>101</sup> los últimos quince años se han sucedido las publicaciones en diversos países, dando a conocer circunstancias diversas sobre la epizootiología de la infestación, particularmente en cuanto respecta a las características ecológicas que gobiernan la distribución de los hospedadores intermediarios que, conectadas con los focos dependientes del tipo de explotación de los animales domésticos receptivos y del papel de los animales salvajes (KRULL y MAPES<sup>81</sup>), determinan la posibilidad de presentación de la enfermedad.

Por lo que se refiere a España, la bibliografía disponible es parca y en ningún caso señala cuáles son los factores epizootiológicos concretos que influyen en la aparición del parasitismo. LOPEZ NEYRA<sup>92</sup> fue quien primero identificó *Dicrocoelium dendriticum* (D. d.) en vacas y ovejas de Granada y más tarde en las mismas especies en Granada y Madrid.<sup>93</sup> RANQUINI<sup>137</sup> estudió la formación del huevo, así como los aspectos citológicos de la fecundación y maduración del mismo. ROCA<sup>139</sup> también cita la enfermedad en 1948.

REJAS GARCIA<sup>138</sup> publicó los resultados del tratamiento con derivados del antimonio. Por último, SAIZ MORENO<sup>141</sup> han mencionado la presencia de la enfermedad en Ciudad Real.

Estos antecedentes, unidos a la observación de que la dicroceliosis es un proceso muy extendido en los rumiantes de la provincia de León, han sido las razones que nos han impelido a realizar nuestra investigación, encaminada a dilucidar los siguientes aspectos:

- a) Distribución geográfica provincial e importancia del parasitismo por D. d.

- b) Determinación de los hospedadores intermediarios utilizados por el trematódo en el área geográfica considerada, analizando los factores ecológicos que influyen.
- c) Valoración de las pérdidas irrogadas a la ganadería leonesa por este parásito.
- d) Posible utilización de estos conocimientos en la lucha contra la verminosis.

## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

*Dicrocoelium dendriticum* (RODOLPHI, 1819), Looss 1899, agente etiológico de la dicroceliosis de los rumiantes<sup>91</sup> (sin citar los roedores y otros mamíferos domésticos y salvajes) tiene una amplísima sinonimia (véase MAPES<sup>98</sup>) de la que solamente discutiremos *D. lanceatum* STILES y HASSALL,<sup>155</sup> pues todavía se usa en algunas ocasiones. La especie-tipo *D. dendriticum* ha sido descrita por TRAVASSOS.<sup>166</sup>

RUDOLPHI (1803) utilizó la designación *Fasciola lanceolata* inicialmente pero en 1819, empleó la designación *Distoma dendriticum*.

La designación específica *lanceolata*, fue suprimida por STILES y HASSALL<sup>155</sup> al comprobar que SCHIRANK<sup>146</sup> había usado previamente la denominación *Fasciola lanceolata* para un trematódo intestinal de *Cyprina brama* (= *Abramis brama*), pez de agua dulce, por lo que los autores antes citados propusieron el nombre específico de *lanceatum*. No obstante, cuando ODHNTER<sup>120</sup> demostró que *dendriticum* tenía prioridad sobre *lanceatum*, se aceptó definitivamente la nomenclatura que encabeza este párrafo.

La lista de hospedadores definitivos de *D. d.* ha sido compilada por MAPES<sup>98</sup> comprendiendo las siguientes:

### ESPECIES

Alce	<i>Alces alces</i>
Bóvido salvaje de Europa Central y Montañas Rocosas.	<i>Bison europaeus</i>
Búfalo	<i>Bos sp.</i>
Cebú	<i>Bos (Bibos) indicus</i>
Búfalo indio	<i>Bos (Bubalus) bubalis</i>
Bóvidos domésticos	<i>Bos taurus</i>
Camello	<i>Camelus bactrianus</i>
Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>
Perro	<i>Capra hircus</i>
Cabra doméstica	<i>Capra ibex</i>
Cabra de los Alpes	<i>Canis familiaris</i>
Especie de mono de Madagascar (Mangabey)	<i>Cercopithecus sp.</i>
Guenon. Primate del Ex-Congo Belga	<i>Cervus capreolus</i>
Corzo	<i>Cervus elaphus</i>
Ciervo Rojo	<i>Cervus (Sika) nippon</i>
Ciervo Sika	<i>Cervus songaricus</i>
Ciervo de Altai	<i>Citellus sp.</i>
Ardilla	<i>Dama dama</i>
Espécie de pequeño corzo común en Inglaterra	<i>Equus caballus</i>
Caballo	<i>Equus asinus</i>
Asno	<i>Felis domesticus</i>
Gato	<i>Gazella dorcas</i>
Gazela de Dorcas	<i>Homo sapiens</i>
Hombre	<i>Lama glama</i>
Llama	<i>Lepus coreanus</i>
Liebres orientales y conejos del Japón	<i>Lepus europaeus</i>
Liebre europea	<i>Lepus sp</i>
Liebre	<i>Macaca speciosus</i>
Macaco (una de las varias especies de Madagascar)	

<i>Marmota europea</i>	<i>Marmota marmota</i>
<i>Visón</i>	<i>Mustela vison</i>
<i>Nutria</i>	<i>Myocastor coypus</i>
<i>Oveja doméstica</i>	<i>Ovis aries</i>
<i>Oveja europea</i>	<i>Ovis europaea</i>
<i>Chimpacé</i>	<i>Pan satyrus</i>
<i>Cinocéfalo, mono grande</i>	<i>Papio sp.</i>
<i>Gamuza, rebeco</i>	<i>Rupicapra rupicapra</i>
<i>Cerdo salvaje</i>	<i>Sus scrofa</i>
<i>Cerdo doméstico</i>	<i>Sus scrofa domestica</i>
<i>Oso polar. Otros osos.</i>	<i>Thalarctos maritimus</i>

A los que MAPES<sup>97</sup> añade como nuevos, los siguientes: *Marmota monax rufescens* *Marmota rufescens* wood chuck. *Dama virginianus* (MAPES Y BAKER<sup>101</sup>) Ciervo de cola blanca (white-tailed deer).

En cuanto a la distribución geográfica del verme citamos la recopilada de la literatura mundial por MAPES<sup>99</sup> a la cual añadimos nosotros los hallazgos posteriores a la aparición de su trabajo junto con sus citas bibliográficas:

*Africa*  
Egipto. Congo Belga<sup>8</sup> Sudan (*D. hospes*)<sup>35</sup>.

*América del Norte.*  
Canadá. Estados Unidos (MAPES<sup>100</sup>, BAKER<sup>5</sup> y <sup>6</sup>, PRICE<sup>135</sup>).

*América del Sur e Indias Occidentales.*  
Brasil, Colombia y Cuba.

*Asia.*  
Armenia, Asia Menor, Azerbayjan, China, Filipinas, Georgia, India, Japón, Kazastan, Líbano, Palestina, Siberia, Siria, Transcaucasia, Turkestán.

*Europa.*  
Alemania, Austria, Bohemia, Bulgaria, Dinamarca, Escocia, España, Estonia, Francia, Gales, Grecia, Hungría, Islas Hébridas (SCOTLAND<sup>147</sup>), Inglaterra (LANCASTER<sup>87</sup>), Italia (BECILLI<sup>8</sup>), Ucrania, (KLESOV Y POPOVA<sup>69</sup>), Noruega, Polonia, Portugal, Rumania, Rusia (BOBKOV<sup>12</sup>), Suecia (HASSELR<sup>55</sup>), Suiza (GALLI-VALERIO<sup>43</sup>), Turquía, Yugoslavia.

### 2.1. CICLO EVOLUTIVO

El hecho de que tanto en bovinos como en ovinos europeos se dé con grandísima frecuencia la infestación mixta fasciola-dicrocelio, llevó a afirmar a los primeros investigadores, erróneamente, que el *Dicrocoelium* era una forma inmadura de *F. hepatica*. A este respecto, ODHNTER<sup>120</sup> escribe que, aun RUDOLPHI (1803) habiendo descrito el *D. dendriticum* (su *F. lanceolata*) suprimió más tarde este nombre, porque pensó haberse confundido con una forma joven de fasciola.

En síntesis, el ciclo evolutivo de *D. d.* es como sigue:

Emitidos los huevos con las heces son ingeridos junto con estas por diversas especies de caracoles terrestres en cuyo intestino incuban, liberándose un *miracidio*. Este se transforma en *esporocisto de primer orden*, el cual da lugar al *esporocisto de segundo orden* que, originará más tarde las *cercarias de larga cola* (no existe la fase de redia). Las *cercarias de larga cola* (*Cercaria longicaudata* = *Cercaria vitrina*) son eliminadas por el caracol englobadas en pequeñas *esférulas* de 1,5-3 mm de diámetro, pero soldadas entre sí, de modo que forman una masa mucosa, blanca, refringente, de 5-12 mm de diámetro, denominada «*bola de mucus*» que en el caminar del caracol queda adherida a las hierbas o piedras. Es entonces cuando las hormigas del género *Formica* tienen la oportunidad de ingerir estas cercarias que, en su abdomen y otros órganos, se transformarán después de 35-62 días en *metacercarias* infestantes. Cuando los mamíferos hospedadores definitivos ingeren, por sus hábitos alimenticios, hormigas con *metacercarias*; los jugos estomacales digieren la cubierta del quiste y queda en libertad la metacercaria que a través del conducto colédoco alcanza el hígado dentro de una hora o más. La madurez sexual se establece entre los 45-69 días después de la ingestión.

A continuación señalamos los progresivos hallazgos habidos en cada una de las principales fases en que, por razones didácticas, dividimos el ciclo del parásito.

### 2.1.1. El huevo y miracidio

Los huevos son operculados de 35-45 × 22-30 micras. Contienen aun antes de abandonar el útero, un miracidio que al cabo de 1-4 días abondona el huevo, operculado, en el intestino de determinados caracoles terrestres y que evolucionará sin formar redias.

MOULINIE<sup>110</sup> señaló que los huevos estaban llenos de un embrión maduro cuando salían del útero, pero que no eclosionaban en los conductos biliares.

Von WILLEMOES-SUHUM<sup>175</sup> comprobó que después de dos meses de inmersión en el agua, los huevos no eclosionaban, lo cual difería notablemente de lo ocurrido con los huevos de *F. hepatica*. Comprobó también que tres especies de caracoles acuáticos no se infestaron en un acuario con gran cantidad de huevos de *D. d.* después de tres meses de exposición.

LEUCKART<sup>89</sup> trabajando con once especies de caracoles acuáticos halló que eran refractarios a la infestación y que en los huevos incubaban en el intestino de cinco especies de babosas, el miracidio muere a las pocas horas. Las primeras afirmaciones de este autor fueron comprobadas por HENKEL<sup>56</sup>.

Es indudable que la permanencia y difusión de la enfermedad que nos ocupa está muy en relación con la viabilidad o resistencia de los huevos a los agentes externos. A este respecto, SKVORTSOV<sup>150</sup> dice que los huevos resisten temperaturas entre 50° y -23°C por lo menos 24 horas.

PAVLOVICH<sup>124</sup> escribe que los huevos de *D. d.* en las heces mantenidas en el laboratorio conservan su viabilidad por cinco años, mientras que mantenidas fuera en el ambiente la conservarían por más de 16 meses.

VERSHININ<sup>169</sup> demuestra que los huevos de *D. d.* permanecen viables en las heces de oveja situadas en la superficie de los suelos de la región de Kaluga desde el 7 de mayo al 21 de abril (350 días), pues el 50 por 100 y el 65 por 100 respectivamente de dos grupos cada uno de 20 *Fruticicola fruticum* eran experimentalmente infestados con aquellos huevos.

La eclosión de los huevos en el caracol ha sido estudiada por diversos autores. Los experimentos de PAVLOV<sup>125</sup> muestran que el huevo operculado eclosiona en el intestino del caracol, aunque la eclosión no tiene lugar si el huevo no está embrionado, ni si el caracol está letárgico. La incubación depende no solo de las secreciones intestinales y del pH del medio, sino también de factores más complejos.

ENGBERT<sup>34 37</sup> y <sup>38</sup> estudió la morfología y biología de *D. d.* No menos interesante son los estudios de KONONOV<sup>71</sup> quien afirma que *D. d.* sobrevive en el molusco más de ocho años aun a pesar del tratamiento y manteniendo al animal aislado.<sup>1-17-20-28-30-48-115-148 y 176</sup>

### 2.1.2. Caracoles como hospedadores intermedios

#### 2.1.2.1. Primeros ensayos

PIANA<sup>129</sup> halló en el caracol *Theba carthusiana* (su *Helix carthusiana*), una cercaria que denominó *Cercaria longocaudata* y, si bien la describe insuficientemente, la mayor parte de los autores creen que fuese el mismo organismo hallado por VON LINSTOW<sup>90</sup> en *Zebrina detrita* y al que denominó *Cercaria vitrina* después de describirla con suficiencia.

Sin embargo, el hallazgo de ZARNIK<sup>178</sup> de dos pequeñas formas de larga cola en el hígado de una oveja, se ha explicado solamente por ingestión de las mismas con el agua de bebida.

NÖLLER<sup>116</sup> comprobó en un gran porcentaje de caracoles *Zebrina detrita* y *Abida frumentum* (su *Trochilla frumentum*) la cercaria de larga cola.

VOGEL<sup>172</sup> halló igualmente, en las áreas frecuentadas por ovejas infestadas, que las especies *Z. detrita* y *Helicella candidula* (su *Xerophila candidula*), albergaban aquella cercaria.

MATTES<sup>105</sup> supone que del hallazgo de estas cercarias en áreas no pastadas, serían responsables los cérvidos, liebres y conejos de monte, especies salvajes, en suma.

Fue NÖLLER<sup>116</sup> quien primero unió a la larva (*Cercaria vitrina*) el destino del adulto (*Dicrocoelium*) por comparación de su similitud morfológica.

NÖLLER y KORKHAUS<sup>118</sup> consiguieron la eclosión de los huevos del *Dicrocoelium* en los caracoles terrestres *Helicella obvia*, *Helicella ericetorum* y *Zebrina detrita* y en la babosa *Agriolimax agrestis*, pero la disección a los 35 días p. i. no reveló ninguna larva de trematódo.

En unas series extensivas de infestaciones experimentales con 13 especies de caracoles y babosas, no logró NÖLLER<sup>116</sup> encontrar cercarias, aunque obtuvo esporocistos en *Z. detrita*.

Los caracoles y babosas fueron disecados 50 y 39 días p. i. respectivamente. También expuso a la infestación su *Cochlicepa lubrica* (= *Cionella lubrica*), pero examinada 16-24 días después, no obtuvo larvas atribuibles a *D. dendriticum*.

A este respecto, KRULL y MAPES<sup>79</sup> precisan que los esporocistos no se llenan de cercarias hasta transcurridos tres o más meses, razón por la cual las disecciones de caracoles antes de ese plazo son negativas.

HENKEL<sup>56</sup> no pudo infestar, siguiendo los pasos de NÖLLER, experimentalmente 10 especies de babosas y 15 de caracoles.

KRULL y MAPES<sup>79</sup> consiguieron la infestación artificial y *bolas de mucus* de caracoles *Cionella lubrica* y lo mismo otros autores como MATTES.<sup>105</sup>

También GRIGORYAN y colaboradores<sup>50</sup> han visto que el desarrollo del huevo de *D. dendriticum* en *Helicella derbentina*, *H. crenimargo* y *Zebrina hohenackeri* requiere 5,5 a 6 meses y que la cercaria que sale del molusco muere dentro de dos días en diversos medios externos. VERSHININ,<sup>168</sup> bajo condiciones experimentales, halló que la cercaria de *D. d.* se formaba dentro de los 5 a 5,5 meses y que en la región de Kaluga (URSS), el 1,1 % al 14,8 % de *Fruticicola fruticum* albergaban cercarias.

MATTES,<sup>99</sup> describe con gran detalle cómo él infestó el molusco hospedador *Cionella lubrica* para sus estudios. En realidad, MATTES siguió los procedimientos de KRULL<sup>74</sup> para el mantenimiento de los caracoles en el laboratorio, habiendo obtenido la primera detección de la infestación a los 80 días en un *Cionella lubrica* y estima difícil, aunque lo afirma MATTES,<sup>105</sup> poder reconocer los esporocistos entre los 30-45 días de la infestación. Cuando quiso mantener los moluscos experimentalmente infestados fuera de las placas, siguió el procedimiento de NEUHAUS<sup>113</sup> y MATTES.<sup>105</sup> Además del *Cionella lubrica* expuso a la infestación otros moluscos tales como *Orychilus cellarius*, *Zonitoides nitidus*, *Deroceras reticulatum*, *Arion subfuscus*, *Pupilla muscorum*, *Arion circumscriptus* y *Anguispira alternata*; en todos, excepto en *A. alternata*, hubo evidencia al examinar las heces del material infestante ingerido, que la incubación y salida del miracidio había tenido lugar, pero al examinar estos moluscos en diversos lapsos de tiempo entre los 26 a 282 días p. i., sólo *Cionella lubrica* resultó positivo tal y como recoge el pertinente cuadro en el trabajo citado.

El momento o época más adecuado para la disección de caracoles, con vistas al hallazgo de infestaciones (esporocistos o cercarias) así como el cultivo de los mismos y la manera de colectarlos en cantidad cómoda y rápidamente, son expuestos por MAPES y KRULL.<sup>102</sup> También MATTES<sup>104</sup> hace una aportación a este respecto.

De una manera muy completa, KRULL y MAPES<sup>80</sup> describen el ciclo vital y habitat de *Cionella lubrica*, indicando que las temperaturas que van desde 4,4°C y la de laboratorio eran favorables para el desarrollo «in vitro» del molusco, no soportando por encima de 26,6°C. Otros muchos detalles de la biología de este molusco son enumerados en el estudio que comentamos.

#### 2.1.2.2. Emisión natural y experimental de «bola de mucus»

Después de diversas experiencias se llegó a determinar que transcurridos 3-6 meses, según la temperatura y la especie de molusco, el miracidio se transforma en cercarias que, de una manera natural, son expelidas por el caracol en forma de «bola de mucus». Pero es interesante precisar que el momento de la emisión puede ser inducido experimentalmente como lo han demostrado los autores que citamos a continuación.

NEUHAUS<sup>113</sup> no sólo explica el mecanismo de la emisión natural sino que logra la emisión experimental en condiciones artificiales por él ideadas.

KRULL y MAPES<sup>77</sup> nos hacen saber de otras emisiones experimentales en condiciones diferentes a las ideadas por NEUHAUS.

SVADZHIAN<sup>156</sup> también estudia los factores que influyen la expulsión de cercarias enquistadas en el caracol: humedad 67-100 % y temperatura de 3,5-18°C. Describe un método de obtención de «bolas de mucus».

La diferencia entre las «bolas de mucus» procedentes de *C. lubrica* y la de los diferentes caracoles en Europa así como el reconocimiento de caracoles con infestación avanzada a simple vista son expuestos por KRULL y MAPES.<sup>82</sup>

#### 2.1.2.3. Fracaso de la infestación de mamíferos con «Cercaria vitrina»

Especialmente antes de que KRULL y MAPES<sup>81</sup> descubriesen a una hormiga como segundo hospedador intermedio, fueron muchas y muy diversas las maneras ensayadas para repetir experimentalmente el ciclo de esta enfermedad en mamíferos, dándoles a comer caracoles con

esporocistos, con cercarias o, simplemente, «bolas de mucus»; también se ensayó la vía percutánea con cercarias.

Así, CAMERON<sup>10</sup> informa que logra la infestación de una de dos ovejas por ingestión de *Helicella itala* y *Cochlicella acuta*; sin embargo, el mismo autor, indica más tarde que la cuestión de la infestación por ingestión de caracoles «está aún bajo investigación».

PUKHOV y col.<sup>126</sup> creen que los hospedadores definitivos pueden adquirir la infestación ingiriendo el huésped intermediario infestado, que en la región por él estudiada del Mar Negro y Azov, son la *Theba carthusiana var. minor* y la *T. fruticicola*.

También SAMADOV<sup>142</sup> asegura que la cercaria nunca deja el *Helicella candaharica* y que la infestación del hospedador definitivo es sólo posible por ingestión de este huésped intermediario. Pero estas aseveraciones no han podido ser demostradas ni repetidas.

DOLLFUS et al.<sup>32</sup> describen y dibujan los estados larvarios de un trematodo hallado en *Helix aspersa* de RICHELIEU pero no puede asegurar perteneciese a D. d.

DOLLFUS<sup>33</sup> sugiere que las cercarias, ante condiciones desfavorables del ambiente, se enquistarían dentro de los esporocistos y los mamíferos contraerían la enfermedad al ingerir accidentalmente los caracoles con el alimento.

NEUHAUS<sup>113</sup> creyó haber infestado una oveja con «bolas de mucus», apareciendo los primeros huevos sobre los cinco meses después de la primera infestación y 15.000 D. d. fueron recogidos post-mortem. Lo mismo afirmó MATTES.<sup>105</sup>

Más, a pesar de las anteriores comunicaciones, todos los intentos de infestación experimental de animales receptibles mediante la ingestión de caracoles infestados o de «bolas de mucus», fracasaron cuando se repitieron con riguroso método.

PIANA<sup>128</sup> fracasó en la intención de infestar conejos y ratones.

NÖLLER<sup>116</sup> no logró infestar ovejas, conejos y cobayos.

Tampoco KRULL y MAPES<sup>78</sup> pudieron infestar mamíferos con «bolas de mucus» y lo mismo manifestaron otros autores como VOGEL y FALCAO.<sup>173</sup> HOHORST y GRAEFFE<sup>81</sup> y SVADZHIAN<sup>158</sup> en ovejas.

VESELINOV<sup>171</sup> fracasó en el intento de infestar directamente a seis conejos y una oveja con grandes dosis de cercaria vitrina («bolas de mucus») procedentes de *Zebrina detrita*.

#### 2.1.2.4. Dudas sobre la correcta identificación en vista de lo anterior.

Tanto fracaso «per os» e, incluso por vía percutánea (NEUHAUS<sup>113</sup>), llevó a la duda de si la larva de los caracoles procediese del D. d. y, la interrogante, inquirir sobre si la similitud morfológica y la concordancia (o coexistencia) geográfica entre la cercaria de larga cola y el D. d. no sería una simple coincidencia fortuita. De esta duda se hicieron eco varios investigadores, pues no satisfacían los numerosos fracasos aun existiendo referencias de éxitos.

Fueron MATTES<sup>105</sup> y NEUHAUS<sup>113-114</sup> quienes demostraron la identidad de estas dos formas de una manera indubitable después de investigaciones exhaustivas. Trabajaron con tres especies de caracoles: *H. ericetorum* (*H. itala*), *H. candidula* y *Z. detrita*. Señalaron que el miracidio eclosiona del huevo en el intestino de estos caracoles y emigra al hígado donde se desarrolla dando lugar a dos generaciones de esporocistos (*de primero y segundo orden*). Los esporocistos hijos o *de segundo orden* dan lugar a la salida de las cercarias cuando el segundo esporocisto está maduro; entonces las cercarias emigran a la cámara pulmonar del caracol, donde segregan una fina pared quística que las envuelve enteramente. La emigración ocurre masivamente. En la cámara respiratoria, la masa completa es cubierta con mucus segregado por el caracol. Estas masas de bolas de cercarias, denominadas «bolas de mucus», son expelidas por los movimientos respiratorios del molusco y depositadas sobre la vegetación o las piedras en sus desplazamientos.

La insatisfacción por los fracasos en numerosos intentos de infestación experimental, fue lo que llevó a NÖLLER,<sup>116</sup> entre otros, a pensar en un segundo hospedador intermediario o hospedador auxiliar.

Aun con ello, NEUHAUS<sup>113</sup> fracasó en la búsqueda de infestaciones en larvas de moscas, nemátodos parásitos y larvas de escarabajos.

NÖLLER<sup>116</sup> puso cercarias frente a hormigas, babosas, caracoles y gusanos de tierra, pero no pudo demostrar que ocurriera la penetración.

### 2.1.3. Hormigas como hospedadoras intermediarias II.

#### 2.1.3.1. Intuiciones previas sobre su posible papel.

NÖLLER<sup>116</sup> intentó sin éxito la infestación de aves y mamíferos haciéndoles ingerir cercarias; pero el hecho de que *Dicrocoelium sp.* fuese hallado en murciélagos americanos, los cuales no comen caracoles, llevó al autor a sugerir que un segundo huésped intermediario podría ser necesario. Es conocido que muchos caracoles llevan larvas de escarabajo y moscas, en las cuales la cercaria podría venir a enquistarse.

Veinte años más tarde, KRULL y MAPES<sup>78</sup> determinaron que exámenes controlados de ovejas, que éstas no se infestaban por la ingestión de «bolas de mucus», por lo cual preveían la necesidad de un segundo hospedador intermediario en el ciclo del parásito.

#### 2.1.3.2. Comprobación definitiva.

KRULL y MAPES<sup>83-84</sup> afrontaron el problema haciendo ingerir a corderos libres de la enfermedad, invertebrados posibles hospedadores. Llevaron 12 corderas libres de infestación desde Ithaca a Cazenovia (New York) y las aislaron en un pajar con una dieta a base de heno y pajás durante el período de la experiencia (nutrición controlada). Tres hicieron de testigos. A cinco ovejas se las dio solamente hormigas. A una más, una mezcla de ácaros y hormigas. A otra miriápidos. A otra escarabajos y otros insectos coleópteros. A una final, cochinillas de tierra.

Ocurrió que se recuperaron D. d. de todas las corderas que habían comido hormigas, excepto de la número 792 que recibió una mezcla de ácaros y hormigas en la cual había relativamente pocas hormigas. Todas las corderas que habían sido alimentadas con otros invertebrados distintos a hormigas y los testigos, fueron negativos a la infestación por D. d. Todos los invertebrados ingeridos por los corderos se administraron en cápsulas de gelatina.

La hormiga hallada fue *Formica fusca*, (KRULL y MAPES<sup>81</sup>).

KRULL y MAPES<sup>84</sup> refieren una nueva experiencia con una cordera de un año y otras que fueron testigos: disecaron hormigas y recuperaron 1.968 metacercarias en ellas enquistadas que se administraron a la cordera en trozos de lechuga. Se sacrificó a los 43 días y se recuperaron un total del 165 D. d. Las corderas testigo examinadas en el mismo día fueron negativas. Con toda evidencia, la infestación de mamíferos indica que solamente un número muy limitado de metacercarias ingeridas llega a establecerse con éxito.

Anteriormente a este sensacional resultado habían conseguido la infestación de ovejas dándolas a comer hierba de prados infestados (KRULL y MAPES<sup>78</sup>) pero no pudieron precisar de qué modo la hierba había participado en la infestación.

### 2.1.4. Resumen actualizado de los primeros y segundos hospedadores intermediarios y de las experiencias de infestación experimental.

#### 2.1.4.1. Caracoles como primeros hospedadores.

Los distintos investigadores que se han ocupado de esta enfermedad han hallado una serie de moluscos primeros intermediarios (ver cuadro 1) y otros que, ni natural, ni experimentalmente, llegaron a albergar cercarias y que citamos a lo largo del texto.

La sugerencia de GALLI-VALERIO<sup>41</sup> de que la cercaria puede abandonar el caracol y enquistarse sobre la vegetación, no pudo probarse y hoy está olvidada.

Con respecto a Noruega, dice OKLAND<sup>122</sup> que *H. ericetorum*, implicado por CAMERON como huésped intermediario, no lo es en Escandinavia, a pesar de ser este caracol muy abundante. y que el agente intermediario es desconocido.

En Europa, dice SMYTH<sup>152</sup> que, además de los terrestres citados son hospedadores intermediarios de D. d. *Planorbis marginatus*, *P. complanatus*, *Arion* y *Limax sp*; los dos primeros acuáticos.

KOTLAN<sup>72</sup> menciona como hospedadores obligados en Armenia los citados por SWADZHIAN, el cual da como hospedadores facultativos a *Euomphalia selecta*, *E. revergieri*, *Armenia brunnea*, *Helix vulgaris*, *Metafruticicola pratensis*, *Jaminea sieversi* y *Oxychilus derbentinus*, definiendo como obligados a los miembros de poblaciones con el 100 % de portadores de larvas de D. d. y el número de cercarias por caracol de 200 en adelante; el plazo de maduración de las cercarias es de 105-138 días.

Y, llama *facultativos*, a aquellos que reúnen:

- 1.º Como máximo el 5 % de portadores de larvas.
- 2.º El número de cercarias por caracol es de 1-200.
- 3.º La maduración de las cercarias requiere de 138-210 días.

#### 2.1.4.2. Hormigas como segundos hospedadores.

Los trabajos de KRULL y MAPES<sup>81</sup> tendentes a esclarecer el ciclo de este parásito, llevaron al descubrimiento de una hormiga (*Formica fusca*) como segundo hospedador intermediario del parásito que nos ocupa, con lo cual quedó resuelto el importante problema del ciclo biológico. Los autores observaron a hormigas *F. fusca* comiendo cercarias de *D. d.* en sus hormigueros. Un examen posterior demostró la existencia de metacercarias enquistadas en el abdomen, variando el número de quistes en cada hormiga de 6 a 103. En un pasto contaminado naturalmente, la infestación de hormigas alcanzó el 35 %. Alimentando ovejas con hormigas conteniendo metacercarias se recogieron del hígado de *D. d.* adultos, lo cual demostraba que el himenóptero era el segundo hospedador intermediario.

CREIGHTON<sup>29</sup> en su autorizado relato sobre las hormigas de Norteamérica, informa que las hormigas del complejo *F. fusca* prefieren hormigueros en el suelo, comenzándolos bajo un objeto que los cubra o, en la base de una mata de hierba, y al crecer, una gran masa de tierra es transportada a la superficie.

Los autores citados anteriormente recogieron las hormigas según dos métodos: uno, mediante una botella de succión en el lugar del pasto donde eran encontradas. El otro era destruyendo el hormiguero y metiéndolo con sus detritus en recipientes de cristal tapados que se dejaban en reposo hasta que las hormigas se separaban por sí mismas de los detritus y pajas; seguidamente se las tranquilizaba mediante anestesia y se pasaban a pequeños recipientes limpios hasta que eran examinadas. Aquellas que no fueron examinadas inmediatamente se las mantuvieron en el refrigerador a 4,4°C a cuya temperatura permanecían relativamente inactivas. Las hormigas que se conservan durante períodos más largos de tiempo antes del examen, se mantenían en formalina que era mejor que el alcohol.

#### 2.1.4.3. Número de metacercarias, tanto por ciento de infestación y medidas.

KRULL y MAPES<sup>81</sup> hallaron que el número menor de quistes en una hormiga fue de 6, el mayor de 128 y se encontraron infestadas, en una zona, 101 hormigas de 277, lo que supone el 36 %. En otra zona, de 154 hormigas colectadas con la botella de succión, 33 estaban infestadas, lo que supone un 21 %. Posteriormente y, con la botella de succión se recogieron de las dos zonas mentadas 431 hormigas de las cuales estaban infestadas 134, lo que supone el 31 %.

Pero los autores concluyen que, dado que estas zonas estaban fuertemente contaminadas por huevos de *D. d.* y había una gran proporción de caracoles infestados, la alta incidencia de hormigas con metacercarias es excesivamente grande para los pastos en general.

Cuando las hormigas se recogieron por destrucción de los hormigueros, solamente 15 de entre 407 estaban infestadas, es decir, el 4 %, lo que demuestra que el método de recolección tiene su importancia, debido a que se recogen otros individuos distintos a las obreras suministradoras del alimento. Añaden los autores citados que existe una gran variación en la incidencia de hormigas infestadas en las diferentes recogidas, sobre un mismo lugar y por métodos similares, bien en el mismo día o en diferentes. Así, al considerar la recolección por el método de succión parece ser que la incidencia de la infestación oscila del 23 al 51 % en una zona; en otra va del 10 al 50 %, sin que los autores citados se lo expliquen.

KRULL y MAPES<sup>81</sup> no pudieron explicar si las hormigas en estado de pupa o larva estaban infestadas; la casuística, poco numerosa, no permitió sentar conclusiones respecto al hecho de si en la alimentación de las larvas por las hormigas —mediante la regurgitación del alimento— haría posible la infestación de los estadios de desarrollo juveniles.

Hallaron que, las metacercarias liberadas de sus quistes tenían una longitud de 540-635 micras; la cutícula tenía un espesor de 6-8 micras; la ventosa oral, un diámetro de 62-73 micras con una media de 67; puede observarse que las metacercarias se mueven dentro del quiste, pero no son muy activas y se requiere atención para verlo.

Dos años más tarde, VOGEL y FALCAO,<sup>173</sup> en Alemania, confirman los hallazgos de KRULL y MAPES en USA e infestan experimentalmente, alimentándolas con «bolas de mucus», tres hormigas: *F. fusca*, *F. rufibarbis* var. *fuscorufibarbis* y *F. gagates*. En la naturaleza sólo hallaron infestada la *F. fusca*: 4 de 314 examinadas (1,27 %). Precisan que el desarrollo de la metacercaria dentro de la hormiga se realiza en 38-56 días a 20°C. Un conejo, dos ovejas y un ratón resultaron

infestados cuando ingirieron metacercarias maduras de hormigas natural o experimentalmente infestadas.

En 1956, GRIGORYAN et al.<sup>50</sup> halla infestada las *F. rufibarbis* pero no logra infestar experimentalmente a *Proformica nasuta*. Cuando las metacercarias después de 33-35 días en la hormiga, fueron comidas por dos ovejas, la infestación no tuvo lugar, indicando esto que el período es insuficiente para que la metacercaria resulte infectiva. Dice también que la metacercaria se desarrolla en la cavidad abdominal de la hormiga y que —aparentemente— no puede abandonarla activamente.

SVADZHIAN<sup>158</sup> recogió 118 *D. d.* maduros de vesícula y conductos biliares de una oveja, 89 días después de ser alimentada con 1.000 hormigas (*F. rufibarbis*, *F. fusca* y *Proformica nasuta*), 3,7 % de las cuales estaban infestadas naturalmente con 6-85 metacercarias. La infestación también tuvo éxito en dos conejos a los cuales se dieron *F. rufibarbis* infestadas y, un tercer conejo recibió 250 metacercarias enquistadas recogidas de hormigas.

En el laboratorio las metacercarias morían en dos horas en ácido clorhídrico N/10 más 1 % de pepsina, pero en 50 g. al 1 % de jugo pancreático más diez gotas de bilis de oveja, las metacercarias salían activamente del quiste dentro de doce horas a 37°C.

VERSHININ,<sup>169</sup> halla la *F. fusca* como segundo hospedador intermediario de *D. d.* de las que el 0,8 a 1,8 % estaban infestadas. Sin embargo, *F. rufa*, *F. rufibarbis*, *Lasius flavus*, *H. futilinus*, *L. niger* y *Myrmica lacynidis* estaban libres de infestación.

KLESOV y POPOVA<sup>69</sup> hallan que en la región de Ucrania, la hormiga naturalmente infestada es la *F. pratensis* (RETZ) por el contrario no fueron halladas infestadas hormigas de las especies *Lasius niger*, *L.* y *Polyergus rufescens*. LATR. La metacercaria pasa a *D. d.* adulto a los 45 días en los hígados de 3-4 conejos. El máximo de metacercarias en una hormiga fue de 251. El tanto por ciento de infestación de hormigas varió de 0,09 a 0,45.

BRANGHAM<sup>14</sup> comenta ampliamente el hecho natural de que el ciclo vital de dos especies de hormigas parasitadas, la *F. sanguinea* y la *Polyergus rufescens* depende de otras especies de hormigas ya sabidas hospedadoras, a través de cuyas relaciones podrían ser solamente un *hospedador intermediario secundario* en el desarrollo del parásito, y para las cuales sugiere el hombre de «segundo hospedador auxiliar intermediario». Las primeras serían hospedadores obligatorios y las segundas facultativos.

En un trabajo posterior, BRANGHAM<sup>15-16</sup> hace una relación de las hormigas británicas del género *Formica* que son parásitos sociales temporales por su inutilidad para formar nidos independientemente, citando al tiempo las especies de hormigas de las cuales son huéspedes. Explica el gran parentesco que une a las *Formica pratensis*, otras *Formica* y *Polyergus rufescens* con las tan extensamente parasitadas del grupo *F. fusca*, teniendo la sospecha de que entre ellas se trasmite el parásito en el acto de la regurgitación del alimento procedente del buche y que contiene cercarias enquistadas en el acto de transferirlas alimento e ingerirlo. Y no sólo ésto podría acontecer entre hormigas de la misma, sino también de distinta especie.

KLESOV y POPOVA<sup>70</sup> examinaron en la región de Kharkov, 20.369 individuos de *F. pratensis*, *Polyergus rufescens* y *Lasius niger* procedentes de tres granjas infestadas, en los meses de mayo a noviembre, ambos inclusive. La infestación en 18.053 *F. pratensis* varió de 0,09 % a 0,45 % con una oscilación de 251 metacercarias por hormiga. Resultaron negativas la *Polyergus rufescens* y *Lasius niger*, aun a pesar de proceder, como la primera, de tres granjas infestadas. Cuatro conejos infestados con 148-310 metacercarias alojaron, 77 días después, *D. d.* adultos aunque más pequeños que los de la oveja.

En un trabajo publicado en 1960, SVADZHIAN<sup>160</sup> dice que en los años de 1954-55 infestó en condiciones de laboratorio y con «bolas de mucus» de *Zebrina hohenackeri* hormigas de las especies *F. rufibarbis* y *Proformica nasuta*. El autor describe y dibuja las larvas sin cola, estados de enquistamiento de la metacercaria, la cual a 28-32°C se hace infestante en 35-38 días, mientras que a 19-20, 5°C se requiere esperar 40-62 días después de la infestación de las hormigas.

GRIGORYAN y AKOPYAN<sup>51</sup> dicen que las metacercarias obtenidas 43 días después de la infestación experimental de *F. rufibarbis* con cercarias de *D. d.* eran infectivas para el conejo, pero si obtenidas después de 35 días no lo eran. En el conejo el *D. d.* alcanza la madurez a los 45 días. Varios experimentos en ovejas y conejos muestran que los primeros huevos aparecen en las heces al 65-66 día y 64-69 respectivamente. Los autores consideran que en los primeros estadios de madurez sólo un pequeño número de huevos fueron producidos por los *D. d.* y que por esto mismo no serían detectados en las heces.

NEUHAUS<sup>114</sup> dice, sin embargo, que aunque el desarrollo normal del *D. d.* se alcanza en siete semanas, todavía se necesitan otras cuatro antes de que comience la puesta de huevos, es decir, los primeros se emitirían a los 77 días.

GROSCHAFT<sup>52</sup> halló de entre 13 especies de hormigas, sólo dos naturalmente infestadas: la *F. fusca glebaria* y la *F. pratensis*. Experimentalmente infestó la *F. sanguinea*. Las metacercarias,

dice este autor, resultaron infectivas a los 45 días y cuando fueron consumidas por cobayos produjeron el *D. d.* adulto.

Aunque la normal localización de las metacercarias radique en el abdomen, los experimentos de HOHORST y GRAEFE,<sup>61</sup> HOHORST<sup>60</sup> infestando experimentalmente *F. rufibarbis* y *F. cunicularia* para estudiar los movimientos de las cercarias en estos dos hospedadores, mostraron que, una cercaria (a veces 2-3) siempre se enquistaba en el cerebro de la hormiga, ganglio subesofágico, lo que originaba una conducta anormal con mayores probabilidades de intestación del huésped definitivo por situarse en la parte alta de las hierbas, lo cual permite elegir más fácilmente las hormigas infestadas en el campo, con lo que era fácil procurarse la gran cantidad de hormigas precisas para infestar a los animales de experimentación. Cuando la hormiga infestada pasa la noche fuera del hormiguero, asciende a la parte más alta de las hierbas o plantas situadas cerca de los nidos quedando agarrada a ellas con las mandíbulas y de las que no se sueltan hasta que el calor solar las activa lo suficiente para desasirse y correr entre las otras. Después de esto es evidente una relación de adaptación entre la infestación de mamíferos y hormigas huésped. Parece ser que las metacercarias con esta localización no tienen capacidad para transformarse en *D. d.* adultos.

POPOV y KALITINA<sup>134</sup> disecaron 12.368 hormigas procedentes de 46 hormigueros. Las especies que albergaban fueron:

- |                                  |                                 |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 1.— <i>Formica cinerea</i>       | 4.— <i>Lasius niger</i>         |
| 2.— <i>Formica picea</i>         | 5.— <i>Lasius alienus</i>       |
| 3.— <i>Tetramorium caespitum</i> | 6.— <i>Myrmica scabrinoidis</i> |

Solamente las dos primeras especies fueron halladas naturalmente infestadas, alcanzando el porcentaje de 3,21 % y 0,57 % respectivamente. Dos meses después de dar sus metacercarias al conejo aparecieron huevos en las heces y post-mortem se hallaron 16 *D. d.* adultos.

VESELINOV<sup>171</sup> ha estudiado durante seis años el ciclo biológico del *D. d.* en Bulgaria, hallándose con que sólo el caracol *Zebrina detrita* expulsaba «bolas de mucus» en mayo, junio y julio, no sin examinar —también— otros de los géneros *Helicella* y *Helix*. De seis especies de hormigas del género *Formica* y *Lasius* de los alrededores de Sofía, sólo del 0,71 al 11,11 % de *F. fusca* estaban infestadas. Cuando cercarias de *Zebrina detrita* fueron ingeridas por *F. fusca*, *F. rufa*, y *Lasius niger*, sólo la primera resultó infestada. Las metacercarias de esta hormiga se dieron a un conejo en el cual el 14-28 % de ellas se transformaron en adultos. En un segundo conejo infestado con metacercarias de hormigas infestadas naturalmente, sólo el 5,2 % se transformaron en adultos.

HOHORST y LÄMMLER<sup>62</sup> dan cuenta del mantenimiento de infestaciones de *D. d.* en el laboratorio a base de *Zebrina detrita* como primer hospedador intermediario y *Formica sp.*, principalmente *F. rufibarbis* como segundo. Cricetos, ratas de algodón, ratas blancas, cobayos, conejos, ovejas, bóvidos, perros, gatos y monos, pueden todos ellos ser infestados, pero el criceto sirio era el más utilizado de éstos, cuando la infestación se precisaba para pruebas antihelmínticas, siendo la dosis infectiva de 25 metacercarias por criceto.

Así pues, las citas que anteceden, evidencian que la evolución de cercarias a metacercarias tiene lugar en U.S.A., Alemania, Rusia y Bulgaria en la cavidad abdominal y en otros órganos de hormigas de color rojo-negro (*F. fusca* L.). No obstante, se han logrado infestaciones en dos especies afines: *F. rufibarbis* (FABR.) var. *fusco-rufibarbis* (NYL) y *F. gagates* (LATR).

En Alemania viven unas 70 especies de hormigas de las 5.000 que se conocen. La *F. fusca* mide 7-9 mm de longitud, de color negro-marrón sitúa —a veces— la entrada de sus hormigueros bajo las piedras de diversos tamaños excavando sus galerías a su protección; otras veces forma pequeños montículos, como cúpulas, pero siempre pequeños.

Una descripción más amplia de las costumbres y otros pormenores de las hormigas se hallará en los libros de MORTON,<sup>109</sup> GOETSCH,<sup>47</sup> CAÑIZO,<sup>21</sup> PERRIER, EMERY et FOREL<sup>39</sup> y otros.

Por último, exponemos en el cuadro 15 la relación de las hormigas hasta hoy halladas infestadas natural y experimentalmente, por distintos investigadores.

#### 2. 1. 4. 4. Ruta migratoria de metacercarias y recuento de *Dicrocoelium dendriticum* en el hígado.

El estudio de la ruta migratoria de las metacercarias ha interesado a autores como NEUHAUS<sup>114</sup> quien dice que, en el huésped definitivo la cercaria «viaja» por vía de la circulación portal hacia el hígado alcanzándole en 5-8 días después de la infestación, donde pierde la cola y el estilete. Aunque —añade— alcanza su crecimiento en cuatro semanas, necesita otras cuatro antes de que comience la puesta de huevos.

Sin embargo KRULL,<sup>76</sup> que emprendió una serie de experiencias en *Mesocricetus auratus* y ratón blanco, halló que la metacercaria emigra desde el intestino al hígado a través del conducto coledoco hasta alcanzar todas las partes del sistema biliar dentro de una hora. Este resultado sugiere que NEUHAUS estaba en un error.

También SVADZHIAN<sup>159</sup> investigando idéntico problema, obtiene resultados opuestos a NEUHAUS, no hallando *D. d.* ni en la vena porta ni en las cavidades del cuerpo de los animales sacrificados. Los conductos biliares se alcanzan a las dos horas después de la infestación en el conejo. Halló, en cambio, jóvenes *D. d.* en el conducto coledoco dos horas después de la muerte y 15 días después de la infestación, habiendo penetrado algunos en la vesícula biliar.

SOGOYAN<sup>154</sup> y LÄMMLER<sup>83</sup> abundan en los mismos conceptos que KRULL y SVADZHIAN. Indudablemente, la afirmación de NEUHAUS debe ser infundada toda vez que, por aquellas fechas, aun se desconocía el asentamiento de la metacercaria y partían de una «infestación experimental» en ovejas con «bolas de mucus».

El recuento de *D. d.*, o mejor, la búsqueda en los hígados y —de paso— la detección de la infestación y su gravedad en función de la totalidad de los mismos que un hígado albergue, la realizaron KRULL y MAPES cortando toda la masa en pequeños trozos y malaxándolos con la mano en solución o agua varias veces, contándolos según iban apareciendo y reiterándolos.

SCIPIONI<sup>143</sup> describe un procedimiento para recuento de *D. d.* en hígados de ovejas; el hígado es picado y mezclado. Tres muestras de 10 gr. se toman para contar los *D. d.* Dice que así examinó los hígados de 20 ovejas y que el número de vermes varió de 5.000 a 30.000 en hígados muy infestados, alcanzando la infestación en casos excepcionales más de 50.000 *D. d.*

#### 2.2. PAPEL PATOGENO

Los efectos que *D. d.* origina sobre el huésped definitivo son (LAPAGE<sup>88</sup>) inflamación crónica de los conductos biliares a los cuales irrita y en los cuales determina fibrosis y cirrosis; pero, es indudable, que son mucho menores que los ocasionados por *Fasciola hepatica* porque *D. d.* carece de espinas en la piel y se alimenta de bilis, a diferencia de *F. hepatica* que las posee e ingiere sangre. Sin embargo, una gran cantidad de *D. d.* pueden ocasionar los mismos efectos que *F. hepatica*. Es de señalar, además, que aparte otras acciones excretan toxinas que al pasar a la sangre originan cambios en otros órganos.

Las lesiones histopatológicas producidas en el hígado de ovejas han sido profusamente estudiadas por diversos autores a cuya literatura remitimos a quienes estén interesados en este problema:

CIANCIOTTA<sup>24</sup>; COPPIN<sup>26</sup>; CORNIL<sup>27</sup>; DIHAR et al.<sup>31</sup>; DUKES<sup>34</sup>; HALLER<sup>54</sup>; HOEPPLI<sup>59</sup>; HOOGLAND<sup>63</sup>; KARABAEV<sup>67</sup>; KRAGJCEK<sup>73</sup>; LAPAGE<sup>88</sup>; MAPES<sup>98-99</sup>; MIJATOVIC<sup>108</sup>; SCHEID y MENDHEIN<sup>144</sup>; SMITH y GAULT<sup>151</sup>; SOFRENOVIC y col<sup>153</sup>; SOGOYAN<sup>154</sup>; VERSHININ<sup>170</sup>; VSEVOLODOV<sup>174</sup>.

#### 2.3. DICROCELIOSIS COMO ANTROPOZOONOSIS

La enfermedad que nos ocupa es una zoonopatología transmisible al hombre como lo demuestran los no pocos casos denunciados en diversos países:

AUTOR	PAÍS
COBBOLD 25	INGLATERRA
LEUCKART <sup>89</sup>	ALEMANIA
TRAVASSOS <sup>165</sup>	BRASIL
KALANTARIAN <sup>88</sup>	ARMENIA
PIGOULEWSKY <sup>130</sup>	TASKENT-URSS
VASILIEVA <sup>167</sup>	TURKESTAN
ZOTTA <sup>179</sup>	RUMANIA
PLAVTOV <sup>133</sup>	URSS
ASATUROW <sup>2</sup>	URSS
BERNARD <sup>10</sup>	SUIZA
MTSCHEDLIDZE <sup>111</sup>	SUIZA
TARASSOFF <sup>162</sup>	URSS
LORINZ <sup>64</sup>	HUNGRIA

AUTOR	PAÍS
YENIKOMSIAN <sup>177</sup>	SIRIA
BERGHE y DENEKE <sup>9</sup>	CONGO BELGA
MANDOUL y PAVTRIZE <sup>96</sup>	FRANCIA
SCHEID y MENDHEIN <sup>144</sup>	ALEMANIA
MAZIDIS <sup>107</sup>	GRECIA
PASTERNAK <sup>124</sup>	URSS
SIGALAS et al <sup>149</sup>	FRANCIA
JARRY <sup>64</sup>	EGIPTO, CHINA, EUROPA
GIGITASHVILI <sup>46</sup>	GEORGIA

BERNARD <sup>10</sup> recoge diversas denuncias de otros autores y estudia la enfermedad en el hombre.

TARASSOFF <sup>162</sup> advierte que hay numerosas citas de dicroceliosis humana engañosas, reconociendo el hecho de que los huevos ingeridos al comer hígado crudo, pasan a través del intestino prácticamente sin cambio alguno y, dice, que, aun cuando el hígado esté frito o cocido, es a menudo difícil distinguir el contenido de aquellos otros que están vivos. El único método de diagnóstico seguro es cuando se realiza el análisis de heces durante un período en el que se repiten los análisis y en que el hígado está excluido de la dieta.

JARRY <sup>64</sup> dice lo mismo cuando se ingiere hígado contaminado.

A este respecto de infestaciones humanas engañosas, MANDOUL y PAUTRUZEL <sup>96</sup> encontraron que huevos de *D. d.* y *F. hepatica* obtenidos de los mataderos, cuando eran administrados a voluntarios humanos, aparecían en las heces alrededor de las 18 horas más tarde y continuaban eliminándose durante cuatro días en número decreciente.

SCHEID y MENDHEIN <sup>144</sup> ensaya un *test intradérmico* y discute sus resultados.

LOPEZ NEYRA <sup>93</sup> dice que Kouri ha estudiado en Líbano y Turquía una distomatosis buco-faríngea por el hábito de comer hígado crudo de corderos parasitados por *F. hepatica* al ingerir un número considerable de individuos jóvenes que escapan a la masticación enteros y vivos.

Estos individuos a veces se fijan en la mucosa bucal y faríngea produciendo una afección fugaz y benigna generalmente, aunque, a veces, pueden acarrear la muerte. En ocasiones llegan a las fosas nasales, trompa de Eustaquio y conjuntiva, apareciendo disnea fugaces, asofía y disfagia.

No obstante estas aseveraciones, AZAR <sup>3</sup> dice que fracasó en la implantación de la faringitis parasitaria conocida con el nombre «halzoum», en 92 hombres, cada uno de los cuales había comido 200 g. de hígado crudo infestado por *F. hepatica* y *D. dendriticum* procedente de ovejas y bovinos.

Para JARRY <sup>64</sup> se han producido infestaciones humanas de *D. d.* en Europa, China y Egipto, al consumir frutos en cuyas cavidades había hormigas infestadas con metacercarias.

## INVESTIGACIONES PERSONALES

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ENCUESTA PREVIA

##### 3.1.1. Sobre la presencia de la enfermedad

Los primeros datos sobre la existencia y frecuencia de la dicroceliosis bovina y ovina en León, nos fueron proporcionados por el prof. CORDERO (Com. per.), siendo complementados con información recibida de los veterinarios que ejercen en diversas zonas de la provincia y, particularmente, con los ficheros del Lab. Pec. Reg. del Duero-León, en los que se recogen las respuestas de 60 veterinarios, a una encuesta realizada por dicho organismo sobre el interés de la fasciolosis y la dicroceliosis en León.

Personalmente, acudimos a recabar información directa de los ganaderos de las zonas afectadas, para conocer los lugares frecuentados por las ovejas parasitadas, hábitats de los caracoles terrestres, hormigueros, características climáticas de la zona y prácticas de pastoreo. En conjunto, el trabajo se ha extendido de una manera más principal a las localidades que aparecen en el mapa 1, en el que puede apreciarse la amplitud de la zona que se reseña.

#### 3.1.2. Trabajos de matadero.

Se realizaron en bovinos y ovinos en el Matadero Municipal de León, así como en el matadero de la firma F. R. I. L. E. S. A., emplazado en la localidad de Azadinos (León) y, en este último, sobre bovinos tuberculosos procedentes de la Campaña Estatal de Erradicación de esta enfermedad.

En el primer centro, se controlaron los *decomisos hepáticos* tomándose nota también de la incidencia de las parasitosis localizadas en el hígado (hidatidosis), pero todo ello bajo el punto de vista de la inspección bromatológica normal, junto con la procedencia de las reses, pero, ya constatando los casos de dicroceliosis y fasciolosis.

En F. R. I. L. E. S. A., comenzábamos anotando la procedencia de cada res inspeccionada; hacemos notar que la totalidad de los hígados fueron totalmente decomisados. Se estudiaron minuciosamente las vesículas biliares y, si era preciso, tejidos hepáticos para comprobar la presencia de dicrocelios (y de sus huevos). (Mapa 4.).

La técnica general de investigación era la siguiente: Colgadas las asaduras para la inspección, se situaba una bandeja de porcelana (40 x 35 x 5 cm) debajo de la vesícula biliar que se seccionaba con la punta de un cuchillo para dejar evacuar la bilis hacia la bandeja, donde sobre su blancura destacaba la presencia de los dicrocelios. Solo si este examen era negativo, se procedía a descubrir toda la mucosa para comprobar si quedaba algún verme adherido. En el caso de que la bilis fuera muy oscura y espesa, como ocurre con frecuencia, se pasaba por un colador de acero inoxidable (malla de 1 mm<sup>2</sup>) proyectando sobre él un chorro de agua. Acto seguido se lavaba en sentido inverso sobre la bandeja, con lo que los parásitos ya limpios destacaban netamente. Si este examen también fuese negativo, sometíamos a la totalidad de la víscera a cortes perpendiculares a la dirección de los conductos biliares, obteniéndose trocitos de 1-2 x 5-8 cm. sobre la bandeja, que se comprimían con las manos, bajo capa de agua para expulsar los tremátodos. Pasábamos los trocitos de hígado a otro recipiente (por si fuera preciso cortar de nuevo los trozos y lavarlos) y el líquido sanguinolento y bilioso que había quedado en la bandeja, muy oscuro, se filtraba y lavaba en las condiciones antes indicadas.

#### 3.1.3. Coprología

Sobre 23 bovinos y 337 ovinos se realizaron análisis coprológicos. Las heces se tomaron directamente del recto, mediante extracción digital, con los índices y medio enguantados, en los ovinos.

En algunos bovinos, de igual forma; otras, en el momento de la defecación directamente del suelo, en los casos en que presenciamos la emisión o que por estar el animal en su plaza, podían tenerse garantías respecto a la procedencia de las mismas y a la no contaminación.

Los análisis se realizaron siguiendo las técnicas de GREGOIRE et al.<sup>49</sup> y CARBALLEIRA y col.<sup>22</sup>

Parte de los animales procedían de Cofiñal, Puebla de Lillo, Camposolillo, y Lugán, en el Valle alto del río Porma (Montaña). El resto correspondía a animales de San Juan de Torres (proximidades de La Bañeza) y Bariones (ribera del río Esla), ambos en la Meseta.

El mapa 2 sitúa los lugares de la toma de heces con fines coprológicos.

### 3.2. HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS

#### 3.2.1. Caracoles

##### 3.2.1.1. Recogida e identificación

Teniendo en cuenta que la gran mayoría (excepto *Planorbis marginatus*, *Pl. complanatus* y *Armenia brunnea*) de los hospedadores intermedios de *D. d.* son caracoles terrestres, inicialmente se recogieron muestras de todo tipo de moluscos localizados en ese hábitat con objeto de comprobar su posible intervención en el ciclo de la verminosis. Las localidades de las que se tomaron muestras aparecen indicadas en el mapa número tres. Mas, cuando vimos que en un nicho de *Cionella lubrica* abundaban los *Lymnaea truncatula* nos decidimos a colectar también caracoles acuáticos que, además, complementan el mapa malacológico provincial.

Los moluscos se envasaron en tubos o en frascos de vidrio o plástico, indistintamente. Inicialmente se hizo una selección previa para separar las presuntas especies distintas. Los recipientes se etiquetaron con la fecha, lugar de recogida y otros datos complementarios de posible utilidad en la identificación (altitud, características del emplazamiento, etc). Para permitir la respiración de los caracoles y cuando la permanencia en los frascos era prolongada, se perforaron sus tapones.

A fin de asegurar la supervivencia de los caracoles en el laboratorio en las mejores condiciones, se tomaron porciones de césped con tierra adaptados a las medidas de los cajones de madera en los cuales se implantaría el moluscario. De este modo se conservaron vivos hasta el instante de su identificación. Como alimento, además de la propia hierba del césped, se les proporcionó lechuga. Los cajones eran viejos envases de 70 × 40 × 15 cm.

No hemos considerado necesario de recurrir a las trampas recomendadas por MAPES y KRULL.<sup>102</sup>

La colecta se iniciaba a las siete de la mañana, aunque en ocasiones, dada la distancia de los lugares de recogida en relación con nuestro laboratorio (60-90 kms), tuvimos que valernos de otras horas no tan propicias.

De acuerdo con las indicaciones de los pastores de las localidades visitadas, iniciamos la búsqueda en los parajes frecuentados por las ovejas. La densidad de caracoles por unidad de superficie se determinó hallando la relación entre el número total de caracoles del nicho y la extensión del mismo expresada en metros cuadrados, así:

Núm. de moluscos en el nicho

\_\_\_\_\_ = Densidad por metro cuadrado.

Metros cuadrados del nicho

Para la identificación de los moluscos hemos contado con la colaboración de ALVAREZ SANCHEZ, J., del C. S. I. C., de quien, además, recibimos precisas nociónes para la identificación de las especies terrestres aquí citadas; siempre, los resultados hallados por nosotros fueron corroborados o enmendados por él.

Se consultaron para estos fines las obras de CASTANOS FERNANDEZ<sup>23</sup>, GERMAIN<sup>45</sup>, HAAS<sup>53</sup>, HIDALGO<sup>57-58</sup>, MARGALEF<sup>103</sup>, NAVARRO CANDIDO<sup>112</sup>, PERRIER<sup>127-128</sup>, FORCAT<sup>40</sup> y ROWETT<sup>140</sup>.

Gran número de caracoles se identificaron por sus caracteres conquiológicos. Cuando éstos no bastaban por ser comunes a diversos individuos de un mismo género, se recurrió a la disección de los órganos internos. Previamente se mataban sumergiéndolos en un recipiente lleno de agua hasta el borde tapándolo con una placa de cristal de modo que no quedase ninguna burbuja de aire entre su cara inferior y la superficie del agua. Al cabo de 12-24 horas, los caracoles morían con el pie extendido fuera de la concha. Aparte de esto, los órganos de los caracoles se quedaban embebidos en agua y se evidenciaban mejor sus características diferenciales. Lo mismo se matan los acuáticos, solo que con agua hervida. Con tijeras y pinzas muy finas, así como agujas y pequeños bisturíes de disección, se daban los cortes precisos para descubrir los órganos que ofrecían los detalles diferenciales. Esta disección se hacia bajo capa de agua fijando el caracol con alfileres sobre una plancha de cera que estaba adherida a otra de plomo adaptada al fondo de una bandeja de amplia base y paredes de 3-4 cms. de alto.

Los envíos a ALVAREZ SANCHEZ se realizaron a veces, matando los caracoles del modo descrito y remitiéndolos en alcohol de 70°; otras se enviaron vivos.

Los terrestres se metían en un frasco de boca ancha y se tapaban con una tela metálica. No hacía falta darles de comer, pues encierran su boca con el epífragma y hacen vida latente hasta que las condiciones mejoran; también se envían muy bien en bolsa de tela.

Los acuáticos se ponían en un bocal o cristalizador que contenía algas o plantas acuáticas, las que proporcionan oxígeno y alimento. El tapón debe tener finos agujeros; también se pueden enviar en bolsas de plástico con finísimos agujeros.

##### 3.2.1.2. Cultivo o infestación experimental

Los moluscos adultos recogidos en las zonas estudiadas, se mantuvieron sobre tierra cubierta de césped recogida en el propio biotipo del que procedían los caracoles. Este tipo de mantenimiento tenía por objeto comprobar la infestación natural de los mismos previa disección o también captar la expulsión de «bolas de mucus». Igualmente permitía obtener la puesta para cultivos y ensayos de infestación experimental. En detalle, este terrario tenía parecidas características a las señaladas por GALTSOFF<sup>44</sup>. En cajones de madera de 60-100 cm × 40-60 cm × 15-25 cm., se instalaron los trozos de césped a que antes hemos hecho referencia. En cada uno de los cajones se ponía la signatura del nicho de procedencia, fecha y se le asignaba un número, cerrándose la parte superior con malla de plástico o metal para impedir el paso de los caracoles de uno a otro cajón. En cada terrario se mantenían 50-60 moluscos. Durante el verano se les procuraba sombra por un mínimo de 10-11 h. diarias. La humedad se aportaba por aspersión con una regadera en los crepúsculos matutino y vespertino estivales; en otros casos, se inundaba el suelo, para mantener la hierba verde. Para cada lote de caracoles hemos utilizado dos terrarios, alternativamente, en rotación semanal.

Cuando la hierba crecía excesivamente, se cortaba en parte del terrario con el fin de poder observar los moluscos, permitiendo que éstos encontraran refugio en las partes no segadas. Como complemento nutritivo se les suministraba cada 3-5 días, lechuga que —en ocasiones— se sustituyó por trozos de pera que aceptaron fácilmente. Menos adecuados resultaron los trozos de manzana. Durante 15 días rechazaron las uvas. En el centro de los terrarios se excavaba un hoyo a llenar flojamente con piedras, trozos de ladrillo, maderas, que, dejando huecos servían de refugio a los caracoles durante el verano.

También se utilizó el terrario de Petri tal y como lo describen MAPES y KRULL.<sup>102</sup> El número de caracoles por placa de Petri dependía de las dimensiones de aquéllos. En una placa de 100 mm<sup>2</sup> disponíamos ocho ejemplares de *Cionella lubrica* y especies de tamaño aproximado, mientras que se requería una placa de doble tamaño para un número semejante de *Helicella itala* y similares. (figs. 1 y 2).

Para realizar infestaciones experimentales se dispuso de un terrario preparado con tierra y cascotes, al que se añadía posteriormente trazos de cal y conchilla de ostras triturada. Como recipiente, grandes cristalizadores de 25-35 cm<sup>3</sup>. El resto de los cuidados eran similares a los ya descritos. Sobre el terrario así dispuesto se situaba la puesta de los caracoles cuya receptividad a la infestación se pretendía estudiar. Del huevo de *C. lubrica* surgía el caracol entre 15-20 días alcanzando la madurez después de 4-6 meses.

Para la infestación experimental, se eligieron las siguientes especies: *Cionella lubrica*, *Helicella itala*, *H. (Xerocincta) neglecta*, *Helicella variabilis*, *Pomatia partioti* y *Theba carthusiana*.

Los huevos de *D. d.* se recogieron a partir de la vesícula biliar de bovinos y ovinos sacrificados en el Matadero Municipal y cuya infestación se determinaba previamente. Por medio de decantaciones sucesivas, añadiendo agua, se conseguía dejarlos exentos de bilis.

Para cada caracol a infestar se empleaba una placa de Petri independiente (30-40 mm<sup>2</sup>) dispuesta en las condiciones citadas. La infestación se realizó siguiendo dos métodos:

El primero consistía en contaminar las hojas de lechuga con la suspensión de huevos en la forma descrita por KRULL y MAPES,<sup>80</sup> o bien, nebulizando la suspensión de huevos con la ayuda de un pulverizador de plástico de los empleados para procesos catarrales naríticos. Los caracoles se observaban a partir de ese instante para tener la certeza de que habían ingerido la lechuga contaminada, lo que solía ocurrir al cabo de 12-72 horas. Todavía continuaba la observación en la placa durante 3-4 días más en cuyo período se analizaban microscópicamente las heces del caracol en busca de los huevos, muchos de los cuales aparecían vacíos por la liberación del miracidio en el molusco.

Si se observaba que el caracol no había aceptado la lechuga contaminada, se retiraba ésta cuando se ponía mustia y se ponían cuatro trocitos equidistantes de lechuga fresca contaminada, con alguno de los fragmentos e ingerirlo. Esto fue suficiente en todos los casos, excepto para *Pomatia partioti*, que no la aceptó y al que dispusimos en ambiente con trozos de roca provista de musgo procedente de su lugar de origen, impregnándole de huevos.

Transcurridos los 3-4 días de observación en placa de Petri se pasaban los caracoles presumiblemente infestados a terrarios de Petri de mayor diámetro, disponiendo el número de ejemplares en armonía con los datos antedichos. Ocasionalmente, las especies de gran tamaño, se pasaron al gran terrario antes mencionado, (cajones).

Para facilitar la ingestión de la lechuga contaminada, dio buen resultado el privar a los caracoles durante cinco días de toda clase de alimento, incluso del papel de filtro.

A parte la conveniencia de mantener una vigilancia escrupulosa sobre la marcha de los caracoles en los terrarios, fue preciso realizar 2-3 observaciones al día, como, mínimo, para controlar la posible omisión de «bolas de mucus», en las épocas en que por razones climatológicas era posible esperar tal fenómeno o, tratándose de infestaciones experimentales, transcurrido el plazo preciso para la formación de las *cercarias vitrinae*.

Cuando hallamos «bolas de mucus» (figs. 9 y 10) procedimos a retirarlas inmediatamente para utilizarlas en la infestación experimental de hormigas o para su estudio microscópico. Si no se procediera así, expuestas al sol, pierden su turgencia característica y quedan reducidas a una masa amorfada, sin brillo y deshidratada, en cuyo interior se observan cercarias muertas o tan debilitadas que hacen muy problemático el éxito de la infestación experimental de las hormigas.

### 3.2.1.3. *Disección*

Para detectar la presencia de esporacistos o cercarias de *D. d.* se procedió con los caracoles de dos maneras distintas:

En los caracoles grandes (figs. 3, 4, 5, 6, 7), (de las especies *Helicella itala*, *H. (Xerocincta) neglecta*, *Pomatia partioti*, *Theba carthusiana*, etc.) se rompía la concha con los dedos o con pinzas, separando los grandes trozos de la misma para dejar descubierto el cuerpo que, situado sobre un porta (de 7,5 cm de long., 5 cm de ancho y 2 mm de espesor) se deslaceraba lo más posible en todas direcciones y se dejaba extendido sobre el vidrio. Se añadían unas gotas de S. F. o agua y se cubría con otro porta similar. A veces la observación se realizó, al estereomicroscopio, sin cubrir con otro porta. Eran suficientes aumentos de 10-40 x.

Los caracoles de menor tamaño, (figs. 3 y 8) (*Pupilla muscorum*, *Lauria cylindracea*, *Vallonia costata*, *V. pulchella* y *Cionella lubrica*) se aplastaban entre dos portas de las condiciones que se señalan, incluso prescindiendo algunas veces de eliminar previamente la concha. La adición de unas gotas de agua o S. F., así como la utilización de pinzas y agujas de disección permitían estudiar debidamente el material.

#### Estímulo de la producción de «bolas de mucus».

Hemos intentado estimular la emisión experimental de bolas de mucus sometiendo a los moluscos natural o experimentalmente infestados a la acción de los rayos infrarrojos producidos por una lámpara «Philips» de 125-130 v. y 250 w; situada a 1,20 m en sesiones de 3-5 horas diarias durante un plazo de 5-8 días. Los caracoles se situaban en un cajón con césped, cubierto con red de plástico para evitar fugas, en el que la hierba se había cortado previamente casi al ras. Al cabo de los cinco días se salpicaban abundantemente de agua y a las pocas horas los moluscos reanudaban su actividad. Esto se repitió durante dos días y los caracoles volvieron a tomar alimento. Si no se comprobaba la eliminación de «bolas de mucus» se les pasaba al frigorífico (4-6° C.) durante 3-5 horas diarias cinco días (NEUHAUS<sup>114</sup>).

Cuando la omisión no tenía lugar después de este manejo, se procedía a la disección de los caracoles para ver si estaban o no infestados y el grado de evolución de los esporocistos en caso de estarlo.

### 3.2.2. Hormigas

#### 3.2.2.1. Recogida e identificación

Como referencia utilizable para una selección provisional de las hormigas posibles hospedadores intermedios segundos, se utilizó el detalle de su color rojo-negro, complementado con los datos previos publicados en diversas naciones respecto a las especies concretas.

Inicialmente se localizaron diez hormigueros situados, varios de ellos, en zonas de pastoreo donde se habían hallado caracoles infestados: término de Puebla de Lillo y proximidades de León (cuadro 16). Posteriormente se estudiaron hormigueros con otras localizaciones (cuadro 17).

La identificación específica de las hormigas fue realizada por COLLINWOOD (EE. UU.) mediante gestión realizada a través de la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de León. La determinación del cuadro 17 fue realizada por ALVAREZ SÁNCHEZ del Instituto de Edafología del C. S. I. C., de Madrid.

#### 3.2.2.2. Instalación y sostenimiento de hormigueros experimentales.

Dado que la zona estudiada, en su mayor parte, está situada a más de 70 km. de nuestro lugar de trabajo, procedimos a trasladar hormigueros completos, o lo más completos que fue posible, utilizando cajones de madera de 40-60 litros de capacidad, a prueba de hormigas y sacos de papel o plástico de los utilizados como envases para piensos compuestos (40-50 kg de capacidad). Ambos procedimientos sirvieron perfectamente a nuestros fines. El hormiguero se pasaba a estos recipientes con horca o pala, dependiendo de la cantidad de pajas y palos que tuviesen. Cuando la consistencia era grande, se hacía preciso deshacerlos previamente con la ayuda de un zoleto o azadón. Tierra, pajas, palos y el resto de sus componentes eran transportados procurando incluir una hembra madre y larvas para asegurar o prolongar la supervivencia y para procurar, en los primeros momentos del cambio, el constante entretenimiento a que daba lugar la presencia de larvas que exige una rápida acomodación por parte de las hormigas adultas para asegurar su supervivencia, por todo ello deshacíamos los hormigueros en profundidad.

Para instalar el hormiguero se siguieron dos procedimientos. Unas veces se vertía todo el material transportado directamente sobre el suelo, sin preparación alguna, aunque al abrigo de un árbol, de una pared o al borde de un montón de piedras; siempre en las proximidades del laboratorio. Generalmente las hormigas no se acomodaban a su nuevo emplazamiento y emigraban o morían.

En vista de ello, procedimos a excavar en el terreno seco, un hoyo de 30-40 centímetros de diámetro por otros tantos de profundidad y lo rellenamos, flojamente de cascotes de ladrillo, piedras de tamaño medio, trozos de madera, etc., de modo que quedaran pequeños huecos que pudieran ser utilizados por las hormigas; sobre este material de relleno se vertían los hormigueros transportados con la natural independencia: uno en cada excavación y cada cual con la signatura de procedencia, fecha, etcétera.

En estas condiciones las hormigas se instalaron perfectamente manteniéndose activas en condiciones similares a las de su primitivo emplazamiento. El número de individuos recogidos en cada hormiguero de origen oscilaba entre 3.000 a 20.000. A veces, se situaron los hormigueros sin excavar en el suelo, pero bajo grandes pie-

dras planas distantes de tierra 4-10 cm, con resultados inferiores a la excavación. La vecindad de los hormigueros al laboratorio nos permitió observar el comportamiento de los posibles individuos infestados, y con localización cerebral (HORST,<sup>60</sup> HOHORST y GRAEFE<sup>61</sup>).

Los días más adecuados para buscar hormigueros eran los cálidos estivales de 7-10 de la mañana, cuando aún el sol no calienta demasiado. Durante el invierno las localizaciones son mucho más difíciles y la recogida de hormigas requiere destruir con un azadón sus alojamientos pues muchos días no se halla ni una sola en el exterior.

Para estudiar la infestación natural de hormigas o para ensayos de infestación experimental, hacíamos recogidas de pequeño número (100-300) que se transportaban en tubos de ensayo de 19 cm de largo por 3,5 cm de diámetro, en los que se metían con algo de paja y tierra cerrándolos con un tapón de algodón envuelto en gasa e incluso de goma, herméticamente, pues permitía la supervivencia por más de quince horas.

Con fines de infestación experimental, se mantuvieron las hormigas en dispositivos diversos, entre ellos, el recomendado por LÄMMER.<sup>65</sup> Este alojamiento, al menos en nuestra experiencia, no resultó muy adecuado por las dificultades de manejo y la frecuencia con que las hormigas luchaban llegando a matarse, sobre todo en los momentos iniciales del establecimiento. Posteriormente, recurrimos a anestasiarlas ligeramente en un matraz en el que se colocaba un algodón empapado en éter, siguiendo el proceder de KRULL y MAPES.<sup>61</sup>

Un dispositivo que nos dio los mejores resultados para el mantenimiento de hormigas vivas en el laboratorio, fue (fig. 18) un frasco de color topacio de tres litros (30 cm de alto, 18 cm en la base y, boca de 9 cm Ø) cuya boca se cerraba con un tapón roscado de baquelita provisto de placa intermedia de corcho. En el fondo del frasco se situaron unos pocos cascotes de ladrillo que dejaban huecos entre sí y, sobre ellos, tierras y pajas del hormiguero de origen con unas cuantas (30-60) pupas o larvas y las pajas y la tierra de su primitivo ambiente que las contenían. A seguido, introducimos una, a modo de «mesita» que no era sino un trozo de madera plana y delgada (okume) de 8 cm de longitud por 5 cm de anchura, soportada por cuatro patas de hierro apoyadas en el fondo del frasco y fijas en los cuatro ángulos de la madera; la longitud de las patas de hierro era tal que la mantenían a 4-5 cm sobre la superficie de la colonia. La finalidad de esta «mesita» era la de situar sobre ella el recipiente con el alimento o las «bolas de mucus» y evitar que, a los pocos momentos, las hormigas lo taparan con pajas y tierra. Este simple dispositivo permitía el cambio del alimento sin riesgo de evasión, con sólo unas pinzas largas. La humedad ambiental y el agua de bebida se procuraba humedeciendo en agua un algodón envuelto en gasa que se mantenía colgado mediante un hilo sujetado a la tapa del frasco, de modo que distase de cualquiera de los bordes de la «mesita» no más de 1-2 mm o la tocase incluso; este algodón no debía gotear sobre el hormiguero para evitar en lo posible la proliferación de mohos.

Durante algunas semanas se mantuvo envuelto, el frasco que albergaba las hormigas, en un paño negro, pero, en otras ocasiones, y para otras colonias, no se mitigó jamás la luz normal del laboratorio, sin que observásemos inconveniente alguno. Aunque el dispositivo indicado permitía cambiar el alimento de las hormigas sin riesgo de evasión, que fue para nosotros el problema principal del hormiguero recomendado por LÄMMER,<sup>65</sup> se extremaron las precauciones en el manejo de las hormigas situando el frasco sobre una bandeja con una capa de agua de 2-3 cm de altura.

También mantuvimos las hormigas desde su infestación experimental hasta 75 días más tarde en simples placas de Petri de 100-200 mm Ø, en cuyo interior situábamos dos pequeños recipientes de plástico (uno para el alimento y otro para el algodón humedecido en agua) y pequeños cascotes de ladrillo dispuestos para que bajo ellos pudiesen esconderse. La placa de Petri, unas veces se tapó con su propia tapa y, otras como se indica en la figura 15, tomada de GOETSCH.<sup>17</sup>

Al igual que en otros dispositivos, las primeras 24 horas eran especialmente peligrosas, pues, al desplazarse las hormigas tan veloz como nerviosamente, tropezaban entre sí y entablaban feroces luchas en las que morían muchas de ellas y, a veces todas. Puede evitarse esta conducta, como hemos dicho, mediante el oscurecimiento total e incluso la anestesia. En cada placa manteníamos de 6-10 hormigas.

El hormiguero recomendado por GOETSCH<sup>17</sup> (yeso B, fig. 16) es también muy útil para esta investigación y no le hemos hallado inconvenientes. También hemos ensayado el mantenimiento en los hormigueros de la figura 16 (tubular) y figura 17 del mismo autor.

La alimentación se realizó a base de miel rebajada con agua como recomienda CAÑIZO.<sup>21</sup> Observamos, no obstante, que era imprescindible añadir al recipiente del alimento, objetos o sustancias que permitiesen el paso de las hormigas sin sumergirse. Y así, hemos añadido una pequeña cantidad de migas de pan para evitar que se sepultaran en el alimento y perecieran por asfixia. Otras veces eran trocitos de vidrio o piedrecitas estériles. También utilizamos con éxito, la leche en polvo para terneros o cerdos diluida en agua azucarada.

De todos modos, se renovaba el alimento cada 3-4 días empleando un recipiente previamente esterilizado, con lo que se evitaba la presencia de mohos, que son los contaminadores más peligrosos. Al mismo tiempo se renovaba la torunda de algodón humedecida.

Cada 10-15 días se suministraban pulgones (Afidos: *Aphis pomi*) que recogíamos sobre los vegetales (manzano, peral y otros arbustos) y, ello durante 5-10 días como complemento de la alimentación azucarada.

Durante los meses invernales proporcionamos a las hormigas el «gusano» de las manzanas y peras *Cydia pomonella* e *Hyponomeuta malinellus* del arañuelo del manzano, recogidas en las bolsas en que pasan esta estación en las ramas y hojas secas de estos frutales.

### 3.2.2.3. Infestación experimental, disección de las hormigas e identificación de las metacercarias

La infestación experimental se realizó poniendo a disposición de las hormigas las «bolas de mucus» (figs. 9 y 10) recientemente emitidas por los caracoles infestados. Los mejores resultados se obtuvieron manteniendo a las hormigas, durante los 3-5 días previos, sin alimento alguno, al cabo de los cuales, al situar en el hormiguero experimental las «bolas de mucus» las consumían con avidez y prontitud.

Para la disección se anestesiaron con éter (KRULL y MAPES<sup>81</sup>) decapitándolas acto seguido y dejando cada cabeza enfrente a su correspondiente abdomen. Si procedían de hormigueros del campo, se fijaban inmediatamente de recogidas, a su llegada al laboratorio, en formol al 5-8 %, líquido en el que se conservaban perfectamente hasta su examen, identificándose con facilidad las metacercarias, en este estado, aun después de mucho tiempo.

Hemos realizado la disección con dos agujas enmangadas, muy finas y cortas, pero rígidas, rompiendo el abdomen de la hormiga sobre un portaobjetos con una gota de agua, en la platina del estereo-microscopio (Ø 10-40 x). Solamente disecábamos la cabeza si previamente se encontraran metacercarias en el abdomen. En la práctica, disecábamos diez insectos consecutivamente, disponiéndolos en dos filas sobre un porta de doble anchura que el normal y 2 mm de espesor.

Mediante este procedimiento se comprobaba el número de metacercarias albergado en cada hormiga y podía deducirse también el porcentaje de las infestadas.

Cuando se trataba de descubrir la presencia de individuos infestados en hormigueros (detección inicial), seguimos el procedimiento aconsejado por KRULL y MAPES<sup>81</sup> procediendo a la digestión pépsica de masas de hormigas. Para facilitar la digestión y liberación de las larvas utilizamos un agitador magnético.

Obtuvimos buenos resultados con un método personal que seguidamente describimos: Depositamos en un colador metálico de 5 cm Ø con malla inoxidable de 0,5-1 mm<sup>2</sup> aproximadamente, un centenar de insectos que seguidamente se trituraban con la mano de un mortero al mismo tiempo que se dejaba caer continuamente sobre el colador una fina ducha de agua que arrastraría las metacercarias impidiendo su destrucción por la acción repetida de la mano; el filtrado se recogió en un cristalizador de tamaño apropiado y, luego de terminada la trituración, se pasaba a un embudo de decantación lavando perfectamente el cristalizador y el colador. En el sedimento se hallaban las metacercarias con los 10 Ø del estereo-microscopio. Los residuos del cuerpo de las hormigas retenidos en el colador se examinaban ulteriormente sobre porta o placa de Petri a los mismos aumentos. La trituración se efectuaba más cómoda y rápidamente, interponiendo entre el colador y las hormigas una fina gasa de malla de 1-2 mm<sup>2</sup>.

Aunque se pudieran destruir algunas metacercarias, el método nos ha sido particularmente valioso para determinar la presencia de infestación en los hormigueros con la suficiente rapidez y comodidad. Nosotros no hemos podido hallar metacercarias destruidas, rotas, con este procedimiento.

Cualquiera que sea el método seguido para la obtención de las metacercarias, su búsqueda se realiza en las mejores condiciones con un estereo-microscopio. No es preciso desmenuzar el abdomen de la hormiga, puesto que, en cuanto un objeto punzante lo fractura (incide), las metacercarias salen del abdomen como impulsadas por un resorte y se reparten rápidamente (en surtidor) en la gota de agua que rodea el cuerpo de la hormiga, y ello incluso cuando solamente contienen un escaso número de metacercarias, (6-8).

Esta facilidad en la identificación de las metacercarias en hormigas, tiene lugar después de que se hayan visto una vez, al menos.

La manipulación de las metacercarias y la liberación de sus quistes se realizaron siguiendo el procedimiento de KRULL y MAPES.<sup>81</sup> Las metacercarias liberadas de su cubierta eran muy activas en S. F. o en el jugo gástrico artificial, conservando su vitalidad durante varios días en el S. F., a la temperatura del frigorífico (3,9º C).

Las metacercarias liberadas sobre los portas en los que se han disecado hormigas, pueden recogerse mediante lavado en S. F., dejando que se sedimenten en un tubo y decantando el sobrenadante o en embudo de separación.

### 3.3. INFESTACION EXPERIMENTAL DE CORDEROS Y CONEJOS

Se utilizaron dos conejos y cuatro corderos. Unos y otros habían sido criados desde el destete en régimen de cautividad en el laboratorio. Luego, hasta el momento de su infestación y, durante ella, se les alimentó con nutrientes cuya procedencia ofrecía garantías suficientes respecto a la no inclusión de hormigas vivas ni muertas. Durante los cinco días que precedieron a la ingestión de las metacercarias se analizaron sus heces con resultados negativos.

Nosotros hemos disecado hormiga tras hormiga y, cuando hemos hallado una o más infestadas y reunido un número de metacercarias suficiente (70-300), procedimos a su administración a los animales previo contejo para cada uno.

Las hormigas las disecábamos en un porta de doble anchura (ya cit.) y cuyos bordes esmerilados se bañaban con silicona. Cuando hallábamos una hormiga parasitada y tenía pocos quistes, los desplazábamos hacia un lado y continuábamos disecando otra y otra hasta reunir el suficiente número de ellos. Cuando esto acontecía, se contaba y luego se bañaba en silicona la sonda esofágica que había de atravesar la boca y primer tramo digestivo, así como el embudo de cristal que adaptamos al extremo libre de la sonda. El diámetro del embudo debía permitir entrar dentro de él la parte más estrecha del porta para que al lavarlo abundantemente con agua, recogiese todas las metacercarias que serían arrastradas hacia la cavidad digestiva.

Cada animal portaba un marchamo en la oreja que lo identificaba en todo momento.

En suma, hemos seguido muy de cerca el proceder de KRULL.<sup>75</sup>

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1. ENCUESTA PREVIA

#### 4.1.1. Sobre la presencia de la enfermedad y trabajos de matadero. Cálculos económicos

Aunque pueda parecer extraño, la dicroceliosis era una parasitosis muy poco conocida en la provincia de León. Los primeros datos facilitados por CORDERO (Com. per.) nos llevaron a la obtención de informaciones complementarias debidas a FERNANDEZ FERNANDEZ, J. (Com. per.), Veterinario Titular de Vegamián, Lillo, Reyero, quien estaba familiarizado con la parasitosis en el ganado ovino. RODRIGUEZ RODRIGUEZ, V., Veterinario Titular en el Matadero Municipal de León, también nos proporcionó observaciones personales recogidas en el ejercicio de su cargo alusivas a este proceso parasitario.

Estos datos complementados con nuestros trabajos de recogida de información de ganaderos, nos permitieron señalar inicialmente la distribución geográfica en la enfermedad en las localidades de La Vecilla, Boñar y Riaño y otras. (Mapa I).

La presencia de caracoles del tipo *Helicella itala* también había sido advertida por los pastores, quienes, en cambio, no habían advertido jamás la existencia de *Cochlicepsa lubrica*.

La Inspección Veterinaria de Mataderos, no posee datos concretos en cuanto a la frecuencia de la enfermedad, puesto que en los Libros Registro, únicamente se

anotan los decomisos por «distomatosis», tal y como previene el Reglamento de Mataderos, y bajo cuyo nombre se agrupan la fasciolosis y la dicroceliosis. Esto significa que la parasitosis es mucho más frecuente de lo que señalan las estadísticas habituales, ya que únicamente en infestaciones masivas se aprecian alteraciones anatomo-patológicas que justifiquen el decomiso por sí mismas y se señalaría esta particularidad (cuadro 2).

Teniendo en cuenta la imposibilidad de una investigación minuciosa de los hígados por ser incompatible con la conservación de su valor comercial, nuestros datos al respecto con este procedimiento son inferiores a la realidad. Un resumen de este trabajo de matadero aparece en el cuadro 3, que recoge las tasas de infestación por fasciolosis y dicroceliosis en el Matadero Municipal de León.

Con las limitaciones que ya hemos señalado, en el cuadro 2, aparece señalada la influencia de las trematodosis hepáticas como causa de *decomiso*. Como puede apreciarse, los porcentajes de decomiso por «distomas» son mucho más altos en los bovinos de más de cinco años (71,9) que en los ovinos mayores de dos (55,9), representando en ambos casos una cifra altísima cuya significación económica no puede dejar de notarse. Calculado el peso medio del hígado de vacuno mayor en 4,5 kg y en 2,5 kg para el de ovino y, estimando que el censo provincial de bovinos en 1964 era de 181.205 (RODRIGUEZ RODRIGUEZ, B. Com. personal) y habida cuenta de que los bovinos mayores de cinco años sacrificados en 1964 fueron 7.548 y que el valor del hígado en el mercado local de ese año ha sido de 60 pts/kg para el de bovinos y 50 pts/kg el de ovinos, de los cuales se sacrificaron 9.519 reses mayores, podemos hallar las pérdidas en hígados por estas parasitosis aplicando los tantos por ciento de decomisos citados a la totalidad de las reses y pesos medios de sus víceras. (Nota: por cada tres decomisos parciales hemos estimado componen uno total, por lo que la cifra que a ellos correspondería, ha sido acumulada a los totales de esta manera).

### CALCULOS ECONOMICOS

Pérdidas anuales por «distomatosis» a través de los sacrificados habidos en la provincia de León. Año: 1964.

Especie y edad	Sacrif. n.º de reses	Deco- misos «Dist.» %	N.º de hígados decomisados	Peso medio hígado kg	Peso hígado kg	Peso total hígado decom. kg	Valor total pts hígado decomisado
<i>Bovinos</i> más de 5 años .....	7.548	71,9	5.427	4,5	60	24.421,5	1.465.290,00
<i>Ovinos</i> mayores de 2 años .....	9.519	55,9	5.321	2,5	50	13.302,5	665.125,00
						Total .....	2.130.415,00

Advertimos que, aunque los datos básicos para estos cálculos, proceden del Matadero Municipal de León, las reses sacrificadas proceden de todas las zonas de la provincia y de todos los mataderos de la misma (Servicio Provincial de Ganadería).

Es obvio, por otra parte, que estas pérdidas —mientras no se tomen medidas coordinadas para luchar decididamente contra esta enfermedad— se repiten año tras año, y se repetirán con una incidencia más elevada y grave cada vez.

Y lo apuntado no es todo. Téngase en cuenta que había en la provincia de León en 1964, 181.205 bovinos, 505.772 ovinos (de las que son de ordeño 84.657) y 53.196 caprinos, de los cuales, un elevadísimo porcentaje soporta año tras año la enfermedad que ocasiona un cortejo de pérdidas difícilmente evaluables, pero no menos importantes (en su conjunto al menos) en leche, carne, lana, trabajo, crías raquícticas y muertas, disminución de defensas ante el ataque de otras enfermedades, más los gastos que la medicación y atención de estos animales enfermos originan, a lo que añadimos que, el comercio animal los lleva a todas partes y con ello la enfermedad puede presentarse, si las condiciones del medio lo permiten y los otros hospedadores que la condicionan existen, en zonas hasta entonces vírgenes a la misma.

Mas, no conviene, porque no sería exacto, hablar de animales enfermos (morbilidad) a través de los porcentajes obtenidos por DECOMISOS, en los mataderos, tal y como se establece el dictamen en la inspección bromatológica legal y normal.

Para determinar la extensión de la dicroceliosis (o fasciolosis) de la morbilidad, en bovinos y ovinos, son mucho más exactos los datos obtenidos por *investigación parasitológica*. En este sentido, hemos aprovechado las vísceras hepáticas de los bovinos tuberculosos cuyos resultados refleja el cuadro 4 y las de ovinos a que alude el cuadro 5. Como ya se ha indicado, en ambos casos, la investigación se realizó mediante disección minuciosa de todos los hígados.

Estos resultados indican:

- a) Distribución geográfica en la provincia, reflejada en el mapa
- b) Frecuencia en bovinos
 

Fasciolosis ..... 99,9 % Dicroceliosis ..... 97,9 % Infestac. mixta: Dicroc. + Fasciolosis ..... 97,7 %
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------
- c) En ovinos, la infestación fue mixta siempre y, en ambas enfermedades alcanzó al 100 % de los animales.

Como puede deducirse de los cuadros 4 y 5 la eficacia del examen exclusivo de la vesícula biliar para detectar la dicroceliosis, ha sido del 85,23 % en bóvidos y del 95,80 % en óvidos.

El contejo de D. d. en bóvidos y óvidos arrojó los resultados que van a continuación y cuyas cifras máximas no alcanzan las halladas por BAKER<sup>5</sup> ni SCIPIONI.<sup>143</sup>

Hígados Núm.	Núm. de D. d. contados en:	
	BOVIDOS	OVIDOS
1	5	900
2	12	1.200
3	40	1.500
4	80	2.700
5	340	5.600
6	720	6.080
7	1.500	7.300
8	2.300	8.500
9	8.000	11.113
10	9.000	12.008
TOTALES.....	21.997	56.901
Media de D. d. en hígado de BOVIDOS	2.199	
Media de D. d. en hígado de OVIDOS	5.690	

#### 4.1.2. Análisis coprológicos

En el cuadro 6 aparecen los datos correspondientes a esta investigación. Señal que puede apreciarse, en los lugares donde se ha llevado a cabo la dicroceliosis, es un proceso sumamente frecuente como lo ponen en evidencia esos porcentajes del 100 % para bovinos y 84,9 % para ovinos.

Puede observarse que, en las localidades de Montaña (Puebla de Lillo, Campsolillo y Cofiñal, así como en la limítrofe de Lugán) la enfermedad está establecida sobre el 100 % de los animales tanto bovinos como en ovinos, y lo mismo ocurre para con la fasciolosis.

Sin embargo, en las zonas más meridionales, pertenecientes a la planicie (Bariones, San Juan de Torres), abunda más la fasciolosis que la dicroceliosis: que en ovinos ha alcanzado niveles del 99,1 % y 84,9 % respectivamente.

El análisis coprológico ha resultado mucho más eficaz que la inspección de matadero sin posibilidades de *disección minuciosa* del hígado, a la hora de determinar la presencia de infestaciones. Sin embargo, cuando se dispone del hígado para poder *disecarlo detenidamente*, este método se ha revelado superior al coprológico en comodidad, rapidez y seguridad.

#### 4.2. HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS

##### 4.2.1. Caracoles

###### 4.2.1.1. Recogida e identificación

En el cuadro 7 y mapas 3 y 5, se citan y sitúan, respectivamente las especies de moluscos terrestres identificadas y las localidades donde han sido halladas. Dejemos hacer constar que nuestro trabajo se ha centrado casi de una manera exclusiva sobre especies de «moluscos terrestres» por ser de mayor interés para nuestros fines en este caso concreto.

No obstante, a título informativo y a los efectos de ampliación del mapa malacológico provincial, así como por la utilidad que para una lucha anti-molusco podría tener, toda vez que, fasciolosis y dicroceliosis coincidan no sólo en los mismos individuos, sino también en las mismas zonas geográficas, es por lo que en el cuadro 7 bis citamos las especies acuáticas de moluscos hallados por nosotros. Pero se dan otras razones en señalar estos hallazgos entre las que citamos dos por su importancia.

- a) Que la especie hospedadora de *D. d. Cionella lubrica* ha sido hallada en el mismo nicho en que tenían su habitat varias especies de *Lymnaea* entre las cuales *L. truncatula* (Vegas del Condado) en cuyo caso la lucha contra una cualquiera de ellas incidiría sobre la otra y, en consecuencia, sobre las dos trematodosis: fasciolosis y dicroceliosis.
- b) En numerosísimos casos los nichos de los hospedadores intermedios de *F. hepatica* son colindantes con los nichos de los hospedadores de *D. d.* y, cuando esto no sucede, unos nichos y otros están en la misma zona, en el término de un mismo pueblo y, por ende, en parajes muy próximos con lo cual el factor *desplazamiento* de personal, medios y vehículos, en el momento de establecer una lucha sería común y merecería se considerase la conveniencia de atacar simultáneamente los hospedadores de ambas parasitosis.

La distribución de los caracoles en las áreas estudiadas ha sido muy irregular, apreciándose que, en algunos lugares, existen nichos de gran densidad de población, en tanto que próximos a ellos hay praderas, aparentemente idóneas, en las que es difícil hallar un solo ejemplar.

En la margen derecha y a la altura del km 4 en la carretera que conduce de Puebla de Lillo al Puerto de San Isidro, en las proximidades de la Mina de la Sociedad Española de Talcos, hemos localizado un nicho de unos 6.000 m<sup>2</sup>, dimensiones que en nuestra experiencia consideramos excepcionales, puesto que la norma ha sido encontrar áreas de 60-200 m<sup>2</sup>. Ha sido en este nicho donde estaban los hormigueros de *Formica sanguinea*.

Los nichos de *Helicella itala* (figs. 2, 3, 5 y 9), *H. apicina*, *Chondrula (Jaminia) quadridens*, *Chondrina avenacea* (Fig. 8) y *Pomatia partioti*, estaban siempre en la alta montaña (1.200 m de altitud media) en lugares soleados provistos de hierba verde y otras plantas más o menos espesas, pero siempre verdes y asentados en laderas no muy pendientes (inferior a 45°); los caracoles se hallan de preferencia en la parte más alta de estas laderas. No obstante, ser esto lo más frecuente, a veces, se hallan ejemplares al comienzo del llano en su unión con la ladera y también en cimas y rocas de pendiente vertical.

*Theba carthusiana* fue hallada en la alta montaña y en la planicie de la meseta, siendo la altitud media de la meseta de 800 m aproximadamente (fig. 7).

Los nichos de *H. variabilis* y de *H. (Xerocincta) neglecta*, fueron hallados siempre en las planicies de la meseta, en zonas de humedad aun en el verano, que garantizaría alimento verde, sombra y ambiente fresco. (figs. 3 y 4).

Las paredes rústicas de piedras o rocas superpuestas sin argamasa y, que cierran diversas propiedades en el extrarradio de los pueblos fueron un buen punto de referencia para la búsqueda, pues en sus oquedades los caracoles hallaban refugio para el excesivo sol del estadio y buen acomodo en su semiletargo invernal.

*Cionella lubrica* (fig. 1) se encontró siempre en lugares con bastante humedad, sombríos, bajo el musgo, tallos o piedras e incluso entre tierra húmeda y dentro de pequeñas galerías excavadas por insectos u otros animales, pero, invariablemente muy próximos a corrientes de agua permanente o de frecuente periodicidad: aquella que exigen los cultivos de regadío. En un nicho de más de 3 km de longitud en Vegas del Condado coincidían, en sus bordes, con *Lymnaea truncatula*. Lo mismo que para las especies anteriores se encontraban extensas zonas desprovistas de moluscos aun a pesar de, aparentemente, reunir condiciones adecuadas. Esta especie nunca fue localizada en parajes secos, a diferencia de KRULL y MAPES.<sup>60</sup> Su habitat natural le han constituido los terrenos llanos o con escasa pendiente. Nuestros hallazgos coinciden con los de PILSBRY<sup>62</sup>, BAKER<sup>4</sup> y JESPERSEN<sup>65</sup>.

En cuanto a la densidad de caracoles por metro cuadrado ha sido muy variable. Para *H. itala*, osciló entre 0,2-3 en un total de ocho nichos estudiados. Para *Theba carthusiana*, en un nicho analizado, en el que coincidía con *H. itala* la densidad de población, fue de 0,02 / m<sup>2</sup>.

*Cionella lubrica*, varió entre 0,2-10 / m<sup>2</sup> en cuatro nichos considerados. *H. variabilis* apareció en concentraciones de 2-5 m<sup>2</sup> en cinco nichos.

*H. (Xerocincta) neglecta*, varió entre 0,3-3 / m<sup>2</sup> en dos nichos estudiados.

Una vez determinados los nichos y su composición, elegimos para nuestro trabajo los más accesibles, siempre que supiésemos eran frecuentados por las ovejas y en cuyas inmediaciones existieran hormigueros poblados con hormigas de color rojo-negro.

En general, dentro de las condiciones requeridas para cada especie, las zonas más adecuadas correspondían a laderas de escasa inclinación orientadas hacia el Sur o hacia el Este, cubiertas de césped más o menos verde y, de trecho en trecho, con pequeños matorrales de escasa altura que proporcionarían refugio a los caracoles.

#### 4. 2. 1. 2. Cultivo e infestación experimental

En el mantenimiento de los caracoles en el laboratorio no tuvimos ningún problema serio. Todas las especies aceptaron bien el habitat en que las situamos. Unicamente nos causó una gran mortalidad una tormenta de granizo. También observamos que los grajos acudían a comer los caracoles que mantuvimos situados en una terraza, lo que nos obligó a protegerlos con una malla metálica.

Los grandes terrarios implantados en cajones de madera, proporcionaron excelentes resultados y fueron muy ventajosos en cuanto que no exigían tantas atenciones como el cultivo en placas de Petri. En éstas, se requería siempre una limpieza escrupulosa, sustituyendo los papeles de filtro cada 2-3 días, con lo que se evitaba la aparición de mohos que, invisibles a veces, se detectaban por el olfato.

Para la infestación experimental, los resultados de más garantía, exigían el cultivo de huevos obtenidos directamente de caracoles en el laboratorio o provenientes del campo.

Los resultados de la infestación experimental se recogen en el cuadro 8. Se infestaron los días 1-6 de enero de 1965 y se examinaron el 5 de abril del mismo año.

La observación microscópica permitió constatar una mayor evolución de los esporocistos en *Cionella lubrica*, *H. itala* y *Theba carthusiana* en comparación

con *H. (Xerocincta) neglecta*, encontrándose también más esporocistos en los primeros. Fue negativa en *H. variabilis* y en *Pomatia partitii*.

Si bien la casuística que comentamos no es muy numerosa, puede pensarse que los moluscos que albergaban formas esporocísticas más evolucionadas sean los hospedadores más adecuados. En este sentido no hemos podido hallar diferencias entre *Cionella lubrica*, *H. itala* y *Theba carthusiana*. Sin embargo, eran ostensibles entre estos tres y el grupo de *H. (Xerocincta) neglecta*.

#### 4.2.1.3. *Disección e infestaciones naturales.*

Los caracoles en los que se ha comprobado la existencia de una infestación natural y que, por tanto, tienen el mayor interés epizootiológico en la zona considerada, han correspondido a las especies de *H. itala*, *H. (Xerocincta) neglecta*, *Theba carthusiana* y *Cionella lubrica*.

Los datos relativos a la frecuencia de la infestación, zona de procedencia y distribución estacional aparecen reunidos en los cuadros 9, 10, 11, y 12. El mapa 5 sitúa los pueblos donde se han hallado moluscos infestados naturalmente.

En general, se puede deducir que el tanto por ciento de infestaciones, era mayor en agosto que en mayo, es decir, aumentaba a medida que los meses cálidos se sucedían, por lo que, con toda probabilidad, la máxima incidencia de moluscos parasitados, se hubiese hallado en septiembre-octubre.

La especie que tuvo los porcentajes más altos de infestación fue *Theba carthusiana*, si bien, esto no debe interpretarse en el sentido de que sea la más receptible, por el escaso número de ejemplares que se recogieron. Los más regularmente infestados han sido *H. itala* y ello en porcentajes que se pueden estimar como elevados, muy superiores a los de *Cionella lubrica*. Debemos aclarar a este respecto que, los nichos de esta última estaban en un paraje vedado durante casi todo el año para bovinos y ovinos y que, por ello, las posibilidades de infestarse serían mucho menores.

En todas las especies se encontraron esporocistos en alto grado de evolución, con cercarias bien desarrolladas y reconocibles, algunas ya fuera del saco. Durante el mes de agosto hemos encontrado el mayor número de esporocistos bien desarrollados, de tal modo, que se puede pensar que la mayoría de las «bolas de mucus» sería emitida durante ese mes o en el de septiembre, por lo cual, la máxima infestación de las hormigas se encontraría en los meses de octubre a noviembre, ya que se requieren 35-62 días para la formación de las metacercarias en el abdomen de estos insectos, desde la ingestión de las «bolas de mucus».

El examen resultó negativo para las especies señaladas en el cuadro 13. El hecho de hallar muchas de las mencionadas especies en idénticos nichos a los de las especies de los cuadros 9, 10, 11 y 12 naturalmente infestadas, o en otros de las mismas zonas geográficas y frecuentados por los mismos bovinos y ovinos, infestados éstos en el 100% de los casos, nichos que contenían abundante cantidad de heces y estaban sometidos a idénticas condiciones climatológicas y de altitud, corrobora la idea de que no tienen el más mínimo interés en el ciclo biológico del D. d. No obstante esta afirmación requiere una investigación más amplia.

#### 4.2.1.4. *Fases larvarias*

Cuando la infestación de los moluscos receptivos es reciente, el esporocisto aparece como una masa con tendencia esferoide cuyas paredes están fusionadas o soldadas con las de los esporocistos próximos, siendo imposible separarlos sin destruirlos. Esta masa de esporocistos de *primer orden*, carece de movimientos y difiere de la forma que poseen los esporocistos maduros (de *segundo orden*, fig 11) por ser más corta. En un mismo caracol hemos hallado esporocistos en muy diversos estados de desarrollo, lo que parece señalar la existencia de reinfecciones en el transcurso del tiempo. Concuerda con esta observación el hecho de que, con frecuencia, puedan encontrarse esporocistos en fase inicial de desarrollo en caracoles que ya han eliminado las «bolas de mucus» que contienen la *Cercaria vitrina* (figs. 9 y 10).

En los momentos iniciales del desarrollo, el esporocisto tiene un color más claro que los órganos sobre los que se asienta (prácticamente invade todas las vísceras del caracol). Cuando alcanza ya unas dimensiones de 300 micras o más de Ø, el esporocisto comienza a mostrar movimientos, si bien resultan ya identificables cuando alcanzan las 150 micras de Ø.

En los esporocistos de *segundo orden*, cuyas dimensiones permiten sean vistos a simple vista (más de 2 mm de longitud por 0,2-0,4 mm de anchura) comienzan a ser apreciables los movimientos mucho antes de que la formación de cercarias sea completa. Los movimientos son de tipo ameboide, pero sin desplazamiento de las unidades. El contenido aparece fusionado en los momentos primeros, mientras que la pared está más netamente delimitada. En los esporocistos de *segundo orden* (fig. 11) de desarrollo avanzado, se ven perfectamente cercarias provistas de su cola y dotadas de movimientos activos independientes de los del esporocisto.

La intensidad de la infestación en los caracoles recogidos en el campo ha sido variable, pero, en general, intensa, contándose de 30-600 esporocistos en un solo molusco, aunque el número más frecuente ha sido el de 180-300. En las fases iniciales del desarrollo, es muy difícil precisar el número de esporocisto presentes. De todos modos, debe tenerse en cuenta que, esta alta cifra de parásitos, se debe a la multiplicación por gemmación del esporocisto madre o de primer orden, cada uno de los cuales puede dar lugar a 23-100 esporocistos de segundo orden (BORCHERT<sup>13</sup>).

Durante los meses de julio y agosto, se encontró el mayor número de caracoles infestados. Los días más favorables para recoger gran número de moluscos eran los de llovizna o sol nublado, en las primeras horas de la mañana (6-8 h).

Como es bien sabido, las masas de cercarias (*C. vitrina*) las eliminan los caracoles en el seno de unas esférulas mucoides («bolas de mucus»), (figs. 9 y 10).

Un mismo caracol puede eliminar varias veces tales bolas de mucus. En nuestra experiencia, las nuevas eliminaciones se produjeron a los 2-3 ó 5-6 días de la primera emisión. Despues de haber eliminado sus «bolas de mucus», hemos disecado estos mismos caracoles y comprobado la existencia de esporocistos en diverso estado de desarrollo, lo que explica que la eliminación de las «bolas de mucus» ya referida no se produzca en una sola fecha, sino a lo largo de un período que correspondería a las distintas fechas de infestación sufridas. Es decir, ni la infestación sería única, ni la eliminación de «bolas de mucus» es sincrónica.

La llamada «bola de mucus» es una masa muriforme, de color blanco-blanillante recién emitida que, pronto se torna mate. Su tamaño depende del número de esférulas que la compongan; en nuestra experiencia, varió de 3-13. Las esférulas

agrupadas en las masas de mucus tienen un diámetro de 2-3 mm, lo que hace que algunas de las «bolas de mucus» lleguen a tener más de 1 cm de Ø (fig. 10).

A veces, las esférulas pueden aparecer netamente aplanadas. En el seno de cada una de las esférulas, se hallan las *cercarias de larga cola* (figs. 12 y 13) cuyo número es sumamente variable. En 20 esférulas estudiadas varió desde 108 a 600 con una media de 364,9 por esférula.

Esto significa que teniendo en cuenta el número de esférulas que componen una «bola de mucus» (ha variado en nuestro estudio de 3-13) el total de cercarias eliminadas de una sola vez por un molusco puede oscilar entre un mínimo de 324-1.800 en el primer caso y de 1.404-7.800 en el segundo.

Hemos presenciado el comienzo de la emisión de «bolas de mucus» en diversas ocasiones, observando que el fenómeno se produce a lo largo de un espacio de 30 minutos hasta dos horas y cuarto. Mientras dura el proceso, el caracol ha permanecido inmóvil o con escasos movimientos. Finalmente, caminando arrasta consigo la «bola de mucus» durante un trecho más o menos largo, quedando adherida a las hierbas o plantas con las que roza.

Igualmente hemos observado que los efectos del sol sobre las «bolas de mucus» se traducen inicialmente, en una pérdida de su brillo y turgencia y en una disminución de su tamaño por efectos de la evaporación. Si el proceso se prolonga, quedan reducidas a una masa informe que pierde su aspecto morular en un plazo de 2-4 horas, según la intensidad solar. En cambio, las bolas que permanecen en zonas sombrías conservan su forma y tamaño durante unas 24 horas.

En el frigorífico a 4º C sobre cero, la capacidad infestante para las hormigas se prolonga durante 18 horas por lo menos. A las 72 horas de conservación, sólo un exiguo número de cercarias conserva su movilidad. En este estado, su apetitosidad para las hormigas es tan pequeña que, prácticamente, las rechazan.

Los huevos de *Cionella lubrica* y menos los de *H. itala*, tienen cierto parecido a las «bolas de mucus» emitidas por *H. itala*. Sin embargo la práctica y el examen microscópico en última instancia, aclaran cualquier duda.

Por lo que se refiere a la época del año en que tiene lugar la eliminación de las «bolas de mucus» y al número de las eliminadas, véase el cuadro 14 para *Helicella itala*, única especie en la que hemos presenciado la emisión.

La emisión ha tenido lugar en días de alta sequedad por el fuerte sol, a los que sigue uno o más días de temperatura más baja o humedad ambiente más elevada (ligera lluvia, rocío matinal).

En nuestros intentos de estimular la producción experimental de «bolas de mucus», en caracoles que habíamos infestado en el mes de junio y que examinamos a los 90 días de la infestación, después de someterlos a la acción de la lámpara de rayos infrarrojos y restantes condiciones que cita NEUHAUS<sup>111</sup>, no conseguimos nuestro propósito. En vista de ello hemos procedido a la disección de los ejemplares vivos y nos hemos hallado con que el desarrollo de los esporocistos era insuficiente, estimando haya sido ésta la causa del fracaso.

Realmente, noventa días son pocos para una total evolución, máxime teniendo en cuenta que se infestaron en invierno (enero) y que en nuestra provincia, este mes, el de febrero y parte de marzo, dan temperaturas alrededor de cero grados durante muchas noches, con lo cual los moluscos entran en letargo.

El cuadro 8 alude a esta experiencia.

#### 4.2.2. Hormigas.

##### 4.2.2.1. Especies identificadas.

La determinación de las especies de hormigas se realizó en dos períodos distintos. Inicialmente, como se dice en otro lugar, a través del C. S. I. C. y cátedra de Parasitología (Fac. Vet. León) se envió a COLLINWOOD de EE. UU. un lote procedente de diez hormigueros cuya procedencia y diagnóstico aparecen en el cuadro 16.

La segunda determinación relativa a 14 hormigueros fue hecha por ALVAREZ SANCHEZ del C. S. I. C. y su resultado está recogido en el cuadro 17.

Durante los meses de primavera, verano y otoño, fue muy fácil la localización de los hormigueros, pudiendo comprobarse que, en algunos nichos eran particularmente abundantes, lo que implicaba una más difícil localización de hormigas infestadas, cuando, como sucedía algunas veces, la densidad de caracoles vecinos, por unidad de superficie en tales nichos era comparativamente escasa.

Tan solo en un nicho de unos 50 m<sup>2</sup> hemos hallado tres hormigueros de *Formica pratensis* (fig. 14, cuadro 16, hormigueros 8, 9, 10). En el nicho de 6.000 m<sup>2</sup>, aproximadamente (cuadro 16, hormigueros 6 y 7) aparecieron dos hormigueros de *F. sanguinea*. En el resto de los nichos estudiados, el número de hormigueros osciló entre 20 y 30. Los de *F. pratensis* eran particularmente grandes, formando cúmulos conoides de unos 60 cms de alto y parecido diámetro en su base.

La localización de hormigueros durante el invierno es muchísimo más difícil, no pueden recogerse hormigas sino destruyéndolos con un pico.

Como puede verse, dentro de las halladas por nosotros, había especies que para diversos autores resultaron ser hospedadores de *D. d.* en infestaciones naturales o experimentales, según puede verse en el cuadro 15. Así, naturalmente infestadas se habían hallado la *Formica rufibarbis* y *F. pratensis*, mientras que la *F. sanguinea* solamente se había infestado experimentalmente.

##### 4.2.2.2. Hormigueros experimentales.

En el transporte de las hormigas al centro de trabajo comprobamos que, la utilización de tubos de unos 40 c. c. de capacidad para 50-100 ejemplares resultaba poco satisfactoria, mientras que ese mismo número de hormigas podía transportarse en condiciones correctas, junto con algunos detritus y pajas, en tubos de 200 c. c.

El intentar implantar un hormiguero a base de depositar el material tomado en el campo, directamente sobre el suelo, incluso buscando el amparo de un arbusto, huecos de árboles, paredes o grandes piedras, no proporcionó buenos resultados, pues las hormigas morían o emigraban a otros lugares. El excavado previo de un hoyo que se llenaba seguidamente, como hemos indicado en materiales y métodos, proporcionó siempre buenos resultados, especialmente cuando se transportaba la hormiga madre y la colonia era numerosa. La observación de estos hormigueros cuando comenzaba a ser de día no dio resultado hallar individuos a sus alrededores que estuvieron infestados, ni tampoco agarrados a las plantas con sus mandíbulas.

En lo que respecta al sostenimiento de hormigas en el laboratorio con el fin de controlarlas más rigurosamente, los distintos tipos de albergues ensayados se comportaron de modo muy distinto.

El hormiguero utilizado por LÄMMLER<sup>85</sup> en nuestra experiencia resultó con el inconveniente de las luchas que se establecían en los momentos del establecimiento inicial y la dificultad de la renovación del alimento y retirada de los individuos muertos, momento que era aprovechado por muchas hormigas para escapar. Como ya indicamos, el primero de estos inconvenientes podía aminorarse previa ligera narcosis con éter y enfundado en un paño negro el dispositivo completo.

Cuando utilizamos frascos de vidrio de color topacio (fig. 18) de 2-3 litros de capacidad, logramos los mejores resultados. En raras ocasiones se escapaban una-dos hormigas. Los cambios del alimento eran rápidos y cómodos y la introducción de las primeras hormigas en este recipiente no iba seguida de las violentas luchas observadas en los dispositivos de LÄMMLER. Consideramos que esta conducta más pacífica pudiera deberse a la existencia de tierra y pajas que inmediatamente ocupaban la actividad de estos laboriosos insectos. El color topacio del vidrio, sin duda, contribuye en cuanto que disminuye la luminosidad del recipiente. Hemos mantenido grupos de hormigas en perfectas condiciones, con muy escasas bajas, durante plazos de más de tres meses.

El manejo de hormigas en placas de Petri ha sido sencillo mientras el número de ejemplares fuera escaso (6-10), permaneciendo vivas durante más de 50 días. En cambio, si el número es más alto, las dificultades nacidas de los múltiples intentos de evasión se incrementan considerablemente. El «foso de agua» alrededor de la placa facilita las operaciones (fig. 15).

En el hormiguero de GOETSCH<sup>47</sup> (fig. 17) también es muy fácil el mantenimiento de las hormigas y tiene la gran ventaja de que la humedad se puede procurar con facilidad en cualquier momento y sin destaparlo, pero tuvo el inconveniente de que no era posible presenciar la ingestión de la «bola de mucus», toda vez que las hormigas recogían este material, lo ensuciaban y tapaban con tierra y no era posible seguir su ulterior destino; sin embargo, algunas hormigas, pocas, se afanaban en comer sin pérdida de tiempo mientras otras lo tapaban. Posteriormente recurrimos a cubrir toda la superficie del hormiguero con una capa de piedrecitas perfectamente limpias, de 3-5 cms de espesor, para que al arrastrar la «bola de mucus» de una a otra parte permaneciese siempre limpia y llamase la atención de los insectos en todo momento; el alimento se les procuraba en la misma forma que para el frasco topacio. Con esta variante nuestros fines se facilitaron enormemente.

El hormiguero a base de yeso, preconizado también por GOETSCH<sup>47</sup> fue muy favorable, pudiendo seguirse en él la experiencia con gran facilidad aun después de tres meses; menos práctico resultó el hormiguero tubular del mismo autor, para nuestros fines. (fig. 16-B).

La alimentación de las hormigas fue tarea fácil una vez comprobado el resultado ventajoso de diluir la miel o las soluciones azucaradas y colocar en el recipiente respectivo, trocitos de vidrio, migas de pan, etc. Tanto con este alimento como con la leche en polvo humedecida en agua y con azúcar, como con la aportación de pulgones a la dieta y larvas de las plagas del manzano, los resultados fueron siempre muy adecuados para un plazo de supervivencia de alrededor de tres meses. El único cuidado que fue preciso tener consistía en la limpieza escrupulosa a fin de evitar el enmohecimiento de los alimentos y el cambio regular de los mismos.

En cuanto a los hormigueros trasplantados a nuestro lugar de trabajo, en muchas ocasiones no fue preciso aportar ningún alimento, puesto que las hormigas

se lo procuraban espontáneamente. A lo sumo, durante los ocho primeros días, se aportó de vez en vez, azúcar y miel diluida y migas de pan.

#### 4.2.2.3. *Disección de hormigas natural y experimentalmente infestadas*

Las disecciones se llevaron a cabo entre el 20 de marzo y el 30 de octubre de 1965 con los resultados que se indican en el cuadro 18.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por los investigadores extranjeros, vemos que los porcentajes de las *infestaciones naturales* coinciden muy sensiblemente con los de KLESOV y POPOVA<sup>69</sup> en *F. pratensis*, VERSHININ<sup>168</sup> en *F. fusca*, POPOV y KALITINA<sup>134</sup> en *F. picea* y VESELINOV<sup>171</sup> en algunas colonias o colectas de *F. fusca*. Y que son, nuestros porcentajes bastante aproximados a los de VOGEL y FALCAO<sup>173</sup> para *F. fusca*, SVADZHYAN<sup>158</sup> para *F. rufibarbis*, *F. fusca* y *Proformica nasuta* y, POPOV y KALITINA<sup>134</sup> para *F. cinerea*, distando mucho de los hallados por KRULL y MAPES<sup>84</sup> en *F. fusca*.

El número de metacercarias presentes en cada hormiga naturalmente infestada se precisa en el cuadro 19, que también recoge el número de las observadas en hormigas que sufrieron la infestación experimental. Como puede verse, tanto nuestras cifras medias como las máximas y mínimas de KRULL y MAPES<sup>84</sup> difieren bastante, pues ellos obtuvieron cifras de 6 a 128 metacercarias como mínimo y máximo respectivamente en insectos naturalmente infestados, mientras que nosotros obtuvimos 1 y 67. Experimentalmente, obtuvimos unos resultados que sólo coinciden en el número mínimo de metacercarias por hormiga, con una, pero la máxima de 351 metacercarias es muy superior a la de la infestación natural nuestra, y lo mismo ocurrió para con la media de 121 contra 22 de la primera.

Nuestro 15 % de hormigas infestadas experimentalmente difiere del obtenido por LÄMMLER<sup>85</sup> quien halló del 22-69 % con un promedio de 24 quistes por hormiga, mientras que el nuestro ha sido de 121.

Nosotros no pudimos observar ningún cambio de conducta en estas hormigas experimentalmente infestadas, mientras que LÄMMLER<sup>85</sup> observó que con las mandíbulas se fijaban a los tapones de corcho, guata o algodón.

En las infestaciones naturales, cuadro 20, las longitudes mínima y máxima de los quistes han sido de 371 y 430 micras; la anchura mínima y máxima de 260 y 310 y, las mismas medidas de la cubierta, fueron de 19 y 38 micras. (Figs. 19, 20 y 21).

KRULL y MAPES<sup>84</sup> encuentran que los extremos en cuanto a la longitud fueron de 325 y 465 micras. La cubierta osciló de 10 a 40 micras.

En la infestación experimental llevada a cabo por nosotros, las medidas extremas de la cubierta fueron inferiores a las mismas en insectos naturalmente infestados, como puede verse en el cuadro 20.

Podemos decir que, existen muy escasas diferencias entre las medidas de los quistes halladas por nosotros y por los investigadores extranjeros.

En nuestros resultados destaca la notable diferencia del % de hormigas infestadas natural o experimentalmente y esa notable diferencia ha sido constatada también, como acabamos de apuntar, por LÄMMLER<sup>85</sup>; se puede pensar que, en condiciones naturales, las hormigas se disputen ávidamente las «bolas de mucus» y que siendo centenares de ellas las que pueblan un hormiguero, la proporción de *C. vitrina* es escasa, mientras que en los ensayos experimentales no se daría tal caso.

No nos fue posible constatar localizaciones extra-abdominales de metacercarias, a diferencia de otros autores.

A través de la disección de hormigas naturalmente infestadas hemos hallado como positivas *Formica pratensis*, *Formica rufibarbis* y *Formica sanguinea*, mientras que experimentalmente solamente hemos infestado con éxito positivo a *Formica pratensis*.

#### 4.3. INFESTACION EXPERIMENTAL DE CORDEROS Y CONEJOS

Analizadas las heces de los cinco corderos a los 100, 105 y 115 días, obtuvimos en tres de ellos siempre resultados positivos y en dos, siempre negativos. Esta negatividad la atribuimos al hecho de haberles suministrado metacercarias procedentes de hormigas que habíamos retirado ya muertas de los frascos que las contenían y que se conservaban en el frigorífico durante dos días hasta su disección. Por imperativos económicos no se sacrificaron los corderos positivos ni negativos.

A los 90 días se sacrificaron los dos conejos y se examinaron minuciosamente sus hígados sin haber hallado parásito alguno. La explicación es idéntica a la establecida para los corderos negativos puesto que el material tenía la misma procedencia.

No obstante, la positividad lograda cuando se empleó material fresco, permite corroborar la identificación correcta de la metacercaria.

#### 5. CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> La dicroceliosis está ampliamente difundida entre los ovinos y bovinos leoneses, alcanzando niveles de infestación muy elevados (hasta 100 %) en la zona montañosa cantábrica y más bajos (en torno al 20 %) en la meseta, en armonía con las características ecológicas (edáficas, sobre todo) que gobiernan la distribución de los moluscos I hospedadores intermediarios.

2.<sup>a</sup> La disección cuidadosa de los canalículos biliares descubre muchos casos de parasitismo que pasan desapercibidos al análisis coprológico y, más todavía, al examen rutinario de inspección de mataderos. Esta circunstancia debería tenerse en cuenta al señalar datos estadísticos de frecuencia de la trematodosis.

3.<sup>a</sup> La infestación mixta fasciola-dicrocelio es muy frecuente en la montaña leonesa, alcanzando porcentajes de hasta 100 % en bovinos y ovinos en algunas zonas.

4.<sup>a</sup> El estudio de 32 especies de moluscos terrestres y 10 acuáticas (lo que constituye el primer mapa malacológico de la provincia de León), permite señalar que los I hospedadores intermediarios de *Dicrocoelium dendriticum* en condiciones naturales, y experimentales, son:

*Cionella lubrica*  
*Helicella itala*  
*Helicella (Xerocincta) neglecta*  
*Theba carthusiana*

Por primera vez se comprueba la intervención de *H. (X.) neglecta* como hospedador intermediario de este trematódo.

5.<sup>a</sup> Como II hospedadores intermediarios actúan en condiciones naturales las siguientes hormigas:

*Formica pratensis*  
*Formica rufibarbis*  
*Formica sanguinea*

Por primera vez se menciona la infestación natural de *Formica sanguinea* y la experimental de *F. pratensis*.

6.<sup>a</sup> El mantenimiento de hormigas en el laboratorio se realiza en condiciones favorables en frascos de color topacio, de 5 litros de capacidad, con otros aditamentos que se describen.

7.<sup>a</sup> La importancia económica de la parasitosis hepática fasciola-dicrocelio es considerable. Los cálculos realizados, basándose en el estudio de 1.767 reses vacunas y 1.703 ovinas, permiten cifrar en más de 2 millones de pesetas (1966) el valor de los hígados decomisados en un año en la provincia de León, del total de animales sacrificados.

#### 6. RESUMEN

Tras una amplia revisión bibliográfica sobre el ciclo evolutivo, papel patógeno e importancia como zoonosis, se ha realizado una investigación de la distribución geográfica e importancia de la dicroceliosis bovina y ovina en la provincia de León, comprobándose la gran frecuencia, particularmente en la zona montañosa norteña, y la repercusión económica de las infestaciones mixtas fasciola-dicrocelio, atestiguada por los hallazgos de matadero en 1.767 reses bovinas y 1.703 ovinas.

Estudiando el mapa malacológico provincial se ha comprobado que de las 32 especies de moluscos terrestres y 10 acuáticas identificadas en León, solamente actúan como I hospedadores intermediarios, *Cionella lubrica*, *Helicella itala*, *Helicella (X.) neglecta* (primera comprobación mundial) y *Theba carthusiana*.

Como II hospedadores intermediarios se han hallado *Formica pratensis*, *F. rufibarbis* y *F. sanguinea* (primera comprobación mundial de infestación natural).

Se describe un método de mantenimiento de hormigas, cuyas ventajas sobre otras diversas se destacan.

#### RESUME

Après une bonne révision bibliographique sur le cycle évolutif rôle pathogène et importance comme zoonose, on a fait une recherche sur la distribution géographique et l'importance de la dicroceliose bovine et ovine dans la province de León (Espagne), et l'on a constaté la grande fréquence, surtout dans la région montagneuse, et la répercussion économique des infestations mixtes fasciola-dicrocelio, prouvée par les trouvailles d'abattoir chez 1.767 animaux bovins et chez 1.703 animaux ovin.

En étudiant la carte malacologique de la province on a constaté que des 32 espèces de mollusques terrestres et des 10 espèces de mollusques aquatiques identifiées à León, seulement les *Cionella lubrica*, *Helicella itala*, *Helicella (X.) neglecta* (première constatation mondiale) et *Theba carthusiana*, agissent comme premiers hôtes intermédiaires. Comme secondes hôtes intermédiaires on a trouvé les *Formica pratensis*, *F. rufibarbis* et *F. sanguinea* (première constatation mondiale d'infestation naturelle).

On décrit une méthode d'entretien de fourmis dont les avantages sont remarquables par rapport à ceux d'autres méthodes différentes.

#### SUMMARY

After a comprehensive revision about the life cycle, pathogenic role and importance as a zoonosis, we have carried out a research work on the geographic distribution, and on the importance of bovine and ovine dicroceliosis in the province of León (Spain), and we have noticed a great frequency, especially in the northern mountainous part of said province, and the

economical repercussion of mixed infestations or infections fasciola-dicrocelio, proved by the discoveries in slaughter-houses in 1,967 bovine animals and 1,703 ovine animals.

On studying the malacological map of the province of León it has been shown that among the 32 species of earthly mollusc and 10 species of aquatic molluscs which have been identified in León, only *Cionella lubrica*, *Helicella itala*, *Helicella (X.) neglecta* (first world verification) and *Theba carthusiana* act as first intermediary hosts.

*Formica pratensis*, *F. rufibarbis* and *F. sanguinea* (first world verification) were found as second intermediary hosts.

A method of maintaining ants whose advantages are remarkable is described.

## 7. AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. Miguel Cordero del Campillo que no solamente me proporcionó el tema y dirigió constantemente el trabajo, sino que ha cooperado también traduciendo textos alemanes y revisando críticamente el original repetidas veces, hasta hacer una realidad esta tesis.

Al Dr. J. Alvarez Sánchez, por su labor de enseñanza y asesoramiento en la identificación de moluscos.

Al Dr. Collinwood, por la identificación de hormigas.

A D. Francisco Pedruelo Liberal, por las facilidades que nos otorgó para coordinar el trabajo en el Laboratorio Pecuario.

Al Prof. Dr. Isidoro Izquierdo Carnero, por haber puesto a nuestra disposición su biblioteca de cátedra.

En fin, también estamos reconocidos a la ayuda que nos han prestado los Drs. F. Jiménez Millán, A. Martínez Fernández, B. Aller Gancedo, B. Rodríguez (Jefe Provincial de Ganadería) y D. V. Rodríguez y Rodríguez (Inspector Veterinario del Matadero Municipal de León) y las Srtas. C. Rando y M.º J. Cordero.

Por último, pero no en menor grado, a los ganaderos de Puebla de Lillo don Aurelio González, don José González y otros, por sus informaciones, cooperación a la recogida de material y prestación de animales.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. ANTIPIN, D. N., ERSIOV, V. S., ZOLOTAREV, N. A. y SALYAEV, V. A. (1960) *Parasitology and Parasitic Diseases of Livestock*. Israel Program for Scientific Translations. Jerusalem.
2. ASATUROW, A. G. (1931): Four cases of liver dicrocoeliasis in man. *Trop. Med. Vet. Moscow*, **9**: 38-39.
3. AZAR, J. E. (1964): An unsuccessful trial on production of parasitic pharyngitis (halzoun) in human volunteers. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.*, **13**: 582-583.
4. BAKER, F. C. (1939): Fieldbook of Illinois land snails. *Il. Nat. Hist. Survey Manual*, **2**.
5. BAKER, D. W. (1950): Lancet fluke (*Dicrocoelium dendriticum*) infection in sheep in New York State. *Cornell Vet.*, **40**: 97-100.
6. — (1952): The lancet liver fluke *Dicrocoelium dendriticum* infection in N. Y. State livestock—does this represent a national livestock health hazard?. *Proc. U. S. Liv. San. Ass. 56th Annual Meeting*, 229-262.
7. — y NELSON, S. K. (1943): *Dicrocoelium dendriticum* infections in New York State cattle. *Cornell Vet.*, **33**: 250-256.
8. BECILLI, S. (1950): Sugli ospiti intermedi dei più frequenti distomi degli animali domestici nel Bolognese. *Riv. med. Vet. e Zoot. PARMA*, **2**: 19-32.
9. BERGHE, L. y DUNCKE, K. (1938): *Dicrocoelium dendriticum* (*Fasciola lanceolata*) chez l'homme et les singes au Congo Belge. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, **18**: 509-514.
10. BERNARD, M. (1931): La distomatose a *Dicrocoelium lanceatum* chez l'homme. *Schweiz Med. Wschr.*, **61**: 614-615.
11. BHALERAO, G. D. (1946): Intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum* in India (abstract). *Proc. 33d Indian Sc. Cong.* (Bangalore) pt. III. pp: 120.
12. BOBKOVÁ, A. F. (1964): Epizootiology of *Dicrocoelium* infection in domestic rumiants in the Byelorussian S. S. R. *Sbornik Nauch. Trud. Belorusskogo Nauchno-Issledov. Veter. Inst.*: 109-116.
13. BORCHERT, A. (1965): *Parasitología Veterinaria*. Edit. Acribia. Zaragoza. (España).
14. BRANGHAM, A. N. (1958): Notes myrmecologiques sur les fourmis et la petite douve (*Dicrocoelium lanceolatum Rudolphi*). *Entomol. (Paris)*, **14**: 106-109.
15. — (1959): Ant vectors in the life-cycle of the lesser liver fluker, *Dicrocoelium dendriticum* (*Rudolphi*, 1819) (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Entomol. Gazett. (London)*, **10**: 111-131.
16. — (1960): Notes on ant vectors in the life-cycle of a trematode. *Entomol. Montrly. Mag.*, **96**: 54-56.
17. BRUMPT, E. y NEVEU-LEMAIRE, M. (1951): *Travaux Practiques de Parasitologie*. 5.ª Edic. Masson et Cie. París.
18. CAMERON, T. W. M. (1931): Experimental infection of sheep With *Dicrocoelium dendriticum*. *Jour. Helminthol.*, **9**: 41-44.
19. — (1934): *The internal parasites of Domestic Animals*. A&G. Clark, London.
20. — (1951): *The parasites of domestic animals*. 2d. Edit. A&G. Clark. London.
21. CAÑIZO, J. del, (1958): *Las hormigas*. Hoja Divulgadora del Ministerio de Agricultura. N. 10-58. Madrid.
22. CARBALLEIRA, D. y col., (1958-59): Memoria de la «Fundación Alfonso Martín Escudero». (no publicada).
23. CASTAÑOS FERNANDEZ E. (1917): Prácticas de Historia Natural (Colección de claves dictotómicas para la clasificación de los tres reinos de la naturaleza).
24. CIANCIOTTA, A. (1933): Reperti parassitologici negli ovini pugliesi. *Pathologica*, **26**: 213-214.
25. COBBOLD, T. S. (1879): *Parasites: A. Treatise on the Entozoa of Man and Animals*. J. & A. Churchill, London.
26. COPPIN, E. (1945): *Dicrocoelium lanceolatum* (*Rudolphi*, 1803): Anatomie, biologie, rôle pathogène These, Alfort.
27. CORNIL, A. V. y PETIT, G. (1901): La cirrhose atrophique du foie dans la distomatose des Bovides. *Acad. Sc. Compt. Rend.*, **133**: 178-179.
28. GRAIG, Ch. F. y FAUST, E. C. (1951): *Parasitología Clínica*. UTEHA, Méjico.
29. CREIGTON, W. S. (1950): *Havard Univ. Mus. Compar. Zool. Bull.* 104.
30. CHANDLER, Asa C. (1955): *Introduction to Parasitology*. 9th. Edit. John Wiley y Sons Inc. N. Y.
31. DHAR, D. N. y SINGH, K. S. (1963): Pathology of liver in dicrocoeliasis. *Indian J. of Vet. Sc. and An. Husb.*, **33**: 200-210.
32. DOLLFUS, R. Ph., CALLOT, J. y DESPORTES, C. (1934): Sur une cercaire du groupe vitrina et sa metacercaire enkystée. *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.*, **12**: 521-527.
33. — (1938): Au sujet d'une cercaire de Dicrocoeliidae récemment observée en Bretagne. *Ann. de Par. Hum. et Comp.*, **16**: 560-561.
34. DUKES, H. H. (1937): *The physiology of domestic animals*. 6th ed., Comstock Pub. Co., Ithaca N. Y.
35. EISA, A. M. y DALIL, El. A. M. (1963): Incidence of parasites in bovine livers. *The Sudan J. of Vet. Sc. and An. Husb.*, **4**: 72-76.
36. ENGBERT, H. R. (1961): Microscopical studies on the liver fluke *Fasciola hepatica* L. and *Dicrocoelium dendriticum* Rud. *Microscope*, London, **13**: (4), 91-105.
37. — (1962): Microscopical studies on the liver fluke *Fasciola hepatica* L. and *Dicrocoelium dendriticum* Rud. *Microscope*, London, **13**: (5), 130-140.
38. — (1962): Microscopical studies on the liver fluke *Fasciola hepatica* L. and *Dicrocoelium dendriticum* Rud. *Microscope*, London, **13**: (7), 180-193.
39. EMERY et FOREL (1880): Catalogue des fourmis de l'Europe. *Bull. Soc. Suisse d'Ent.*, **5**: 441-481.
40. FORCAT, L. (sin fecha): *Mollusques Terrestres et d'eau douce*. Petits Atlas de Poche Payot, N. 9 Librairie Payot. Lausanne.
41. GALLI-VALERIO, B. (1935): Observations helminthologiques. *Schweizer Arch. sur Tier.*, **77**: 420-427.
42. — (1936): Notes de Parasitologie. *Schweiz. Arch. f. Tier.*, **78**: 577-581.

43. — (1940): Notes de Parasitologie et de thecnique parasitologique. *Schweiz Arch. f. Tier.*, **82**: 354-357.
44. GALTSTOFF, P. S. (1937): *Culture methods for invertebrate animals*. Ithaca, N. Y.: Comstock Pub. Co.
45. GERMAIN, I. (1930-31): Faune de France. Mollusques terrestres et fluviatiles. Tomo XXI: 1.<sup>a</sup> part. y tomo XXII: 2.<sup>a</sup> part. Paul Lechevalier. París.
46. GIGITASHVILI, M. S. (1962): Three cases of *Dicrocoelium* infection in man in the Georgia S. S. N. *Meditisn. Parazitol. i Parasit. Bol. Moscú*, **31**: 561-562.
47. GOETSCH, W. (1957): *La vida social de las hormigas*. Edit. Labor. Barcelona.
48. GRACIA DORADO, F., GALLEGO BERENGUER, J. y GIL COLLADO, J. (1954): *Lecciones de Parasitología animal*. 2 tm. Madrid. (Sin editorial).
49. GREGOIRE, C., POUPLARD, L., COTTELER, C., SCHYNS, P., THOMAS, J. y DEBERDT (1956): Nouvelle méthode de diagnostic. La distomatose. *Ann. Med. Vet.*, **100**: 294-303.
50. GRIGORYAN, G. A., KHANBERGIAN, R. A. y OBANESYAN, A. S. (1956): The biology of *Dicrocoelium lanceatum* Stiles & Hassall, 1896 (preliminar report). *Trudi Armyanskogo Nauchno-Issledovatel Inst. Zhivotnov i veter. Veterinariya* **9**: 119-127.
51. — y AKOPYAN, V. D. (1960): Experimental data on the biology of *Dicrocoelium lanceatum* Stiles & Hassall, 1896. *Trudi Armyanskogo Nauchno-Issledovatel. Inst. Zhivotnov i veterinarii*, **4**: 247-254.
52. GROSCHAFT, J. (1961): Mravenci doplnkovi mezhositelle motolice kopinate (*Dicrocoelium dendriticum*, Rudolphi 1819). *Ceskoslov. Parasitol.*, **8**: 151-165.
53. HAAS, F. (1929): *Fauna malacológica terrestre y de agua dulce de Cataluña*. Trabajos del Museo de Ciencias Nat. de Barcelona. Vol. XIII.
54. HALLER, K. (1950): Behandlung und Beurteilung der mit dem kleinen Leberegel befallenen Schafleber in der Fleischebeschau. Inaug. Dissertation, Munich.
55. HASSLER, L. (1963): Distomatos hosnotkreatur. Studier over distomatosen inom leverandorsområdet till ett slakteri i ostra Mellansverige. *Nordisk Veterinaemed.*, **15**: 79-91.
56. HENKEL, H. (1931): Untersuchungen zur Ermittlung des Zwischenwirtes von *Dicrocoelium lanceatum*. *Ztschr. J. Parasitenk.*, **3**: 664-712.
57. HIDALGO, J. G. (1909-10): *Estudios preliminares sobre los moluscos terrestres y marinos de España, Portugal y Baleares*. Memorias de la Real Academia de Ciencias Exactas. Fisicas y Naturales de Madrid. Tomo XV. (Suplementos), 1913, y Tomo XV (Suplemento 2.<sup>a</sup>, índice general) 1913.
58. — (1917): Fauna malacológica de España, Portugal y Baleares. Editorial.
59. HOEPLI, R. (1933): Histological changes in the liver of sixty-six Chinesse infected with *Clonorchis sinensis*. *Chinese Med. Jour.*, **47**: 1125-1141.
60. HOHORST, W. (1962): Die Rolle der Ameisen im Entwicklungsgang des Lanzettengels (*Dicrocoelium dendriticum*). *Ztschr. f. Parasitenk.*, **22**: 105-106.
61. — y GRAEFE, G. (1961): Ameisen-obligatorische Zwischenwirte des Lanzettengels (*Dicrocoelium dendriticum*). *Naturwissenschaften*, Berlin, **48**: 229-230.
62. — y LAMMLER, G. (1962): Experimentelle Dicrocoeliose-Studien. *Ztschr. f. Trop. y Paras.*, **13**: 377-397.
63. HOOGLAND, H. J. M. (1929): Carcinome der Gallenwege bei Distomatose der Katze. *Ztschr. f. Krebsforsch.*, **29**: 239-269.
64. JARRY, D. (1961): *Parasitologie Humaine (Exercices pratiques d'Histoire naturelle medicale)*. Gauthier-Villars-Boubée. París.
65. JESPERSEN, P. H. (1944-46): *Dansk naturhistorisk Forening i Kobenhav*.
66. KALANTARIAN, E. V. (1926): Zur Kenntnis der Helminthenfauna der Kinder Armeniens nachden Ergebnissen der helminthenovoskipischen Untersuchungen. *Arch. f. S.chiffs u. Tropen-Hyg.*, **30**: 76-86.
67. KARABAEV, D. K. y SATUBALIN, K. S. (1963): Mass mortality in sheep due to *Dicrocoelium* infection in eastern Kazakh S. S. R. *Trudi Kazanskogo Nauch. Iss. Vet. Inst.*, **11**: 146-247.
68. KLESOV, M. D. y POPOVA, Z. G. (1956): Prophylactic methods against dicrocoeliasis in sheep. *Nauch. Trud. Ukranski Inst. Eksper. Veter.*, **23**: 261-279.
69. — y — (1958): The biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Stiles & Hassall, 1896) the agent of Dicrocoelium in ruminants. *Zoologicheski Zhurnal*, **37**: 504-510.
70. — y — (1959): Study of the biology of *Dicrocoelium* and the epizootiology of dicrocoeliasis in ruminants *Nauch. Trudi Ukranski Inst. Eksper. Veter.*, **25**: 5-18.
71. KONONOV, A. I. (1963): The longevity of *Fasciola* in sheep Liver. (Abstract) *Veterinariya*, **40**: 46-47.
72. KOTLAN, A. (1960): *Helminthologie*. Akademiai Kiadó. Budapest.
73. KRAGJCEK, J. (1950): Leberegelbefall beim Schwein. *Wien tierärztl. Monatssc.*, **37**: 287.
74. KRULL, W. H. (1937): Rearing terrestrial snails, en GALTSTOFF, P. S., *Culture Methods for Invertebrate Animals*, Ithaca, N. Y.: Comstock Pub. Co.
75. — (1956): Experiments involving potential definitive host of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899: *Dicrocoeliidae*. *Cornell. Vet.*, **45**: 511-525.
76. — (1957): The migratory route of metacercaria of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 in the definitive hosts: *Dicrocoeliidae*. *Cornell. Vet.*, **48**: 17-24.
77. — y MAPES, C. R. (1952): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). III. Observations on the slimeballs of *Dicrocoelium dendriticum*. *Cornell. Vet.*, **42**: 253-276.
78. — y — (1952): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). IV. Infection experiments involving definitive hosts. *Cornell. Vet.*, **42**: 277-285.
79. — y — (1952): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella Lubrica* (Muller). V. Notes on infection of *Dicrocoelium dendriticum* in *Cionella lubrica*. *Cornell. Vet.*, **42**: 339-351.
80. — y — (1952): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). VI. Observations on the life cycle and biology of *Cionella lubrica*. *Cornell. Vet.*, **42**: 464-489.
81. — y — (1952): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). VII. The second intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum*. *Cornell. Vet.*, **42**: 603.
82. — y — (1952): *Dicrocoelium dendriticum* and its intermediate host. *J. Parasit.*, **38**: Suppl. pp: 29-30.
83. — y — (1953): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). VIII. The cotton-tail rabbit, *Sylvilagus floridanus mearnsi*, as a definitive host. *Cornell. Vet.*, **43**: 199-202.
84. — y — (1953): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss 1899 (Trematoda: *Dicrocoeliidae*), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). IX. Notes on the cyst, metacercaria, and infection in the ant, *Formica fusca*. *Cornell. Vet.*, **43**: 389-410.
85. LAMMLER, G. (1962): Die experimentelle Infektion der Endwirte mit *Dictocoelium dendriticum*. *Ztschr. f. Parasito*, **22**: 106-17.
86. — (1963): Die experimentelle Chemotherapie der Dicrocoelioses mit *Hetolin*. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, **70**: 373-377.
87. LANCASTER, M. B. (1963): *Dicrocoelium dendriticum* in a ewe. (Correspondence) *Vet. Rec.*, **75**: 35.
88. LAPAGE, G. (1956): *Veterinary Parasitology*. Oliver y Body. Londres.
89. LEUCKART, R. (1886-1901): Die parasiten des Menschen und die von ihnen hervorruhrenden Krankheiten. Bd. 1, Abt. 2: C. F. Winter. Leipzig.
90. LINSTOW, O. V. (1887): Helminthologische Untersuchungen, *Cercaria vitrina* n. sp. *Zool. Jahrb. Syst.*, **3**: 105-106.
91. LOOSS, A. (1899): Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematoden-Fauna Aegyptens zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. *Zool. Jahrb. Syst.*, **12**: 632-635.

92. LOPEZ-NEYRA, C. R. (1916): Notas helmitológicas. *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat.* Sesión del 8 de noviembre: 457-459.
93. ——— (1924): *Gusanos parásitos del hombre y animales domésticos*. Calpe: Madrid.
94. LORINCZ, F. (1933): Two cases of *dicrocoeliasis dendritica* in human beings in Hungary. *Orvosi Hetilap.*, **17**: 488-491 (Abs. in *Helminth. Abs.* 2: 413 (1933)).
95. MAEDER, E. (1937): *Ena obscura* ein weitere Zwischenwirt des Lanzettegeles. *Dicrocoelium lanceatum*. *Ztschr. f. Parasitenk.*, **9**: 261-262.
96. MANDOUL, R. y PAUTRIZEL, R. (1947): Etude expérimentale du transit intestinal des œufs des douves. *Bul. Soc. Pathol. Exot.*, **40**: 450-452.
97. MAPES, C. R. (1950): The lancet fluke, a new parasite of the woodchuck. *Cornell. Vet.*, **40**: 346-349.
98. ——— (1951): A study of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae) and *dicrocoelium* infection. Thesis. Cronell University.
99. ——— (1951): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), includin o its relation to the intermediate host *Cionella lubrica* (Muller). I. A study of *Dicrocoelium dendriticum* and *Dicrocoelium* infection. *Cornell. Vet.*, **41**: 382-432.
100. ——— (1952): *Cionella lubrica* (Muller), a new intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum* (Rud. 1819) Looss, 1899. *J. Parasit.*, **38**: 84.
101. ——— y BAKER, D. W. (1950): The white-tailed deer, a new host of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899. (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Cornell. Vet.*, **40**: 211-212.
102. ——— y KRULL (1951): Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss 1899 (Trematoda: Dicocoeliidae), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Muller). II. Collection of the snail, *Cionella lubrica*, and its maintenance in the laboratory. *Cornell. Vet.*, **41**: 433-444.
103. MARGALEF, R. (1955): *Los organismos indicadores en la limnología* (Biología de las aguas continentales) XII. Minist. de Agric. Dir. Gen. de Montes, Caza y Pesca fluvial. Ins. Forestal de Investigac. y Exper. Madrid, pp: 258-267.
104. MATTES, O. (1933): Experimentelle Untersuchungen über die Zwischenwirtsfrage von *Dicrocoelium lanceatum*. *Verhand. Dtsch. Zool. Ges.*, **35**, 227-231.
105. ——— (1936): Der Entwicklungsgang des Lanzettegels *Dicrocoelium lanceatum*. *Ztschr. f. Parasitenk.*, **8**: 371-430.
106. ——— (1937): Abschliessender Bericht über die in den letzten Jahren im marburger zoologisches Institut durchgeföhrten Untersuchungen zur Aufdeckung des Entwicklungsganges des Leberegels. *Sitzungsb. Ges. Naturw. Marburg*, **72**: 69-100.
107. MAZIDIS, S. P. (1957): A human case of Dicrocoeliosis. *Acta Microbiol. Helen.*, **2**: 58-66.
108. MIJATOVIC, I. y HERCEG, M. (1962): Prilog poznavanju fascioloze i dikrocelioze magarca snarocitom na patolhistoloske promjene u jetri. *Vet. Archiv.*, **32**: 97-99.
109. MORTON WHEELER, W. (1960): *Ants*. Columbia University Press, N. Y.
110. MOULINIE, J. J. (1856): De la reproduction chez les tramatodes endoparasites. *Mem. Inst. Natl. Genevois*, **3**: 31-44.
111. MTSCHEDLIDZE, J. (1931): Sur un cas de dicrocoeliose chez l'homme. *Ann. Parasit.*, **9**: 68-71.
112. NAVARRO CANDIDO, A. (1962): *Clasificación de los animales, vegetales y minerales. Claves dicotómicas para prácticas de Ciencias Naturales*. SAETA, Madrid.
113. NEUHAUS, W. (1936): Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Lanzette gel-Cerarien (*Cercaria vitrina*) und Klarstellung des Infektionsvorganges beim Endwirt. *Ztschr. f. Parasitenk.*, **8**: 413-473.
114. ——— (1938): Die invasionwege der Lanzettelgelcerarie bei der Infektion des Endwirte un ihre Entwicklung zum *Dicrocoelium lanceatum*. *Ztschr. f. Parasitenk.*, **10**: 476-512
115. NOBLE, R. E. y NOBLE, G. A. (1962): *Animal Parasitology* (Laboratory Manual. Lea y Febiger. Philadelphia).
116. NULLER, W. (1932): Über die Rolle der wild Kaninchen als Lanzettegel träger in *Rundschau*, **38**: 190-191, 2
117. ——— (1932): Weitere Untersuchungen über Parasitenbefunde bei Landschnecken von Thuringer Schafweiden in einem Lanzette gelgebeite. *Sitzber. Gesell. naturforsch. Fr.*, (Berlin) **173**: 3-62
118. ——— y ENGL, K. (1932): Weitere Cercarienbefunde bei Landschnecken. *Sitzber. Gesell. naturforsch. Fr.*, (Berlin) **8/10**: 424-437.
119. ——— y KOKHAUS, R. (1929): Das Verhalten von Eiern des Lanzettegels in Schnecken von Thuringer Schafweiden. *Tierärztl. Rundschau*, **35**: 677-680.
120. ODHÉR, T. (1901): Nordafrikanische Trematoden grosstenteils von Weissen Nil: I. Fascioliden. En: *Results of the Swedish Zoological Expedition to Egypt and the White Nile*, Royal University. Uppsala.
121. ——— (1910): *Dicrocoelium dentriticum* (Rud.) der «richtige» Name des kleinen Leberegels. *Zool. Anz.*, **35**: 317-318.
122. OKLAND, F. (1935): Incidence of *Dicrocoelium lanceatum* Stiles and Hassal in Norway *Norsk Vet. Tidsskr.*, **47**: 22-26, 96-100, 162-166. (Abs. in *Helminthol. ABS.*, item **48**, 1935).
123. OVCHARENKO, D. A. (1964): The biology of *Dicrocoelium dentriticum* in deer preserves in the Far East. *Vestnik Leningrad. Univ. Seriya Biologii*, **19**: 35-39.
124. PASTERNAK, N. D. (1958): A case of true dicrocoeliasis in man. *Meditzin. Parasitol. i Parasit. Bol. Moscú*, **27**: 217.
125. PAVLOV, P. (1941): *Helicella obvia* Ziegler, ospite intermedio del *Dicrocoelium lanceatum* Stiles and Hassal, 1896. *Rev. Parasit. (Roma)*, **5**: 253.
126. PAVLOVICH, I. K. (1954): Longevity of Eggs of *Dicrocoelium dentriticum* (Abstrast.) *Veterinariya*, **31**: 27.
127. PERRIER, R. (1963): *La Faune de la France*. Tome 7. HYMENOPTERES Delagrave. Paris.
128. ——— (1964): *La Faune de la France*. Fasc. 9. Bryozaires, Brachipodes, Mollusques. Protocardes (Amphiosus Tuniciers). Delagrave. Paris.
129. PIANA, P. (1882): Le cerarie nei molluschi in rapporto colla presenza del *Distoma hepatico* e del *Distoma lanceolato* nel fegato del ruminanti domestici. *Clin. Vet. (Milán)*, **5**: 306-314.
130. PIGOLEWSKY, S. W. (1927): Quatre cas de dicrocoeliose dans le vieux Tschikent. *Pens. Med. d'Uzbekist.* (Tashkent), **6**: 39-41.
131. ——— (1927): Dicrocoeliose humaine in Asia-Moyenne Russe. *Trop. Med. Vet. (Moscú)*, **5**: 483-485.
132. PILSBRY, H. A. (1948): *Land Mollusca of North America* (North of Mexico). Acad. Nat. Sci., Philadelphia.
133. PLAVTOV, K. (1929): Distomiasis among the population of Nakhichevan. *Rev. de Microbiol. Epidemiol. et Parasitol.*, **8**: 49-53.
134. POPOV, K. K. y KALITINA, A. I. (1962): The development of *Dicrocoelium dentriticum* on high altitude grazing grounds of central Caucasus. *Zoologicheski Zhurnal*, **41**: 1793-1797
135. PRICE, E. W. (1954): The lancet fluke in the United States (Abstrat). Conference on Parasites and Parasitic Diseases of Domestic Ruminants, Bozeman, Montana. Septiembre 15-16. pp: 13-14.
136. PUKHOV, W. H., KRIVOSTA, E. E. and VELICHKIN, P. A. (1937): On the biology of *Dicrocoelium lanceatum*, *Papers on Helminthology Published in Commemoration of K. J. Skrjabin and of the 15th Anniversary of the All-Union Institute*. Moscú: Institute pp: 547-549 (Imprenta del Estado).
137. RANQUINI, J. H. (1946): Formación del huevo en *Dicrocoelium dentriticum* Rudolphi, con el estudio citológico de los procesos madurativos y de la fecundación. *Rev. Iber. Parasitol.*, **6**: 89-110.
138. REJAS GARCIA, F. (1952): Empleo del antimonio en el tratamiento de la Fascioloisis hepatica (*D. lanceolatum*). *Ciencia Vet.*, **12**: 39-47.
139. ROCA, H. (1948): Distomosis hepática de los rumiantes. *Soc. Vet. Zoot.*, (Córdoba), **4**: 211-219.
140. ROWETT, H. G. Q. (sin fecha): *Dissection Guides*: V. Invertebrates. John Murray. London.
141. SAIZ MORENO, L. (1963): Epizootiología de las helmintiasis del ganado lanar en la realidad de nuestras explotaciones. Junta Fomento Pecuario. Ciudad Real. pp: 32, 37-38, 43, 66-67, 80-81.

142. SAMADOV, K. S. (1945): Biology of the lance fluke, *Dicrocoelium lanceatum*. *Bull. Univ. Etat de l'Asie Cent.* (Tashkent), **23**: 150-152.
143. SCIPIONI, V. A. (1958): Un metodo razionale per contare i distomi lanceolati nei segati di ovini. *Atti Soc. Ital. delle Vet.*, **12**: 429-431.
144. SCHEID, G. y MENDHEIN, H. (1950): Die Lanzettelgelinfektion (Dicrocoeliasis) beim Menschen nebst Mitteilung eines neuen Falles. *Zeitsch. f. Trop. u. Parasitol.*, **2**: 142-150.
145. SCHMID, F. (1937): Zur Bekämpfung des Lanzettelgelbefalles bei Schafen. *Berlin. tierärztl. Wschr.*, **53**: 805-808.
146. SCHRANK, F. V. P. (1790): Froteknin pa nagra hittils obeskrigene intestinalkrak. *Kongl. Nya Handl.*, **11**: 118-126.
147. SCOTLAND, (1964): Report on the work of the College for the year ended 30th september, 1964. West of Scotland Agricultural College, Glasgow. 118 pp (Helminths pp: 66, 80, 81, 82, 87, 90, 91, 92, 93).
148. SETTI, C. (1953): *Trattato di Parasitologie Veterinaria*. 2 Vol. 1.<sup>a</sup> Ediz. Berbellini. Moderna.
149. SIGALAS, R. v. Al. (1959): A propos d'un cas de distomatose hepato-biliare a *Dicrocoelium dendriticum*. *Jour. Med. Bordeaux et du Sud-Ouest*, **136**: 585-592.
150. SKVORTSOV, A. (1934): Recherches sur la morphologie et la biologie de l'oeuf et sur le cycle évolutif du *Dicrocoelium dendriticum*. *Med. Parasit. and Parasitic. Dis.*, **3**: 240-253.
151. SMITH, L. W. y GAULT, E. S. (1948): *Essentials of Pathology*. Philadelphia Blakiston Co.
152. SMYTH, J. D. (1962): *Introduction to animal Parasitology*. The English Universities Press Ltd. 102 Newgate Str. London, EC-1.
153. SOFRENOVIC, D., BULJEVIC, S. y STANOJEVIC, S. (1961): Pathology, incidence and diagnosis of liver flukes in pigs. *Acta Vet. Belgrado*, **11**: 31-40.
154. SOGOYAN, I. S. (1960): Pathological changes in sheep infected with *Dicrocoelium*. *Trudi Armyanskogo Nauchno-Issledovatelskogo Inst. Zhivotnovodstva i Veterinarii*, **5**: 173-179.
155. STILES, C. W. y HASSALL, A. (1896): Notes on parasites. *Vet. Mag.*, **3**: 151-161.
156. SVADZHIAN, P. K. (1954): Dynamics of an infection of terrestrial mollusc in Armenian SSR by parthenogenetic stages of *Dicrocoelium lanceatum* and factors influencing the expulsion of slime balls. *Rabot. Gelmintol 75-Let Skrjabin*, pp: 642-648.
157. ——— (1954): A study of the biology *Dicrocoelium lanceatum* Stiles y Hassall and its intermediates hosts in the Armenian SSR. *Trudi Problem. i Temat. Soveshchani. Akad. Nauk SSSR*, **4**: 114-117.
158. ——— (1956): Experimental infection of definitive hosts with metacercariae of *Dicrocoelium dendriticum* Stiles y Hassall, 1896 (Trematoda, Dicrocoeliidae). *Izvest. Akad. Nauk Armyanskoi SSR. Biol. i Selskohozyaistvennie Nauki*, **9**: 89-93.
159. ——— (1959): The migratory routes of the carcaria of *Dicrocoelium lanceatum* Stiles y Hassall 1896 in the definitive hosts. *Veterinariya*, **36**: 45-48.
160. ——— (1960): The development of the metacercariae of *Dicrocoelium lanceatum* Stiles y Hassall 1896 in the supplementary hosts the ant. *Zool. Zhur.*, **39**: 1568-1571.
161. SZIDAT, L. (1934): *Dicrocoelium lanceatum* Rud. 1803. in den Gallengang eines Elches (Alces alces L.). *Ztschr. J. Parasitenk.*, **7**: 392-394.
162. TARASSOFF, W. (1932): On the differential diagnosis of real and pseudo Dicrocoeliosis. *Med. Parasitol. and Parasitic Dis.*, **1**: 50-52.
163. TOKOBAEV, M. M. (1962): Terrestrial molluscs of the Kirgiz S. S. R. as intermediate host of helminths of domestic animals. *Izvezst. Akad. Nauk Kirgizskoi SSR. Seriya Biolog. Nauk*, **4**: 163-175.
164. ——— (1962): Terrestrial mollusca the Kirgiz S. S. R. as intermediate hosts of helminths of domestic and wild animals. *Izvest. Akad. Nauk Kirgizskoi SSR. Seriya Biolog. Nauk*, **4**: 117-123.
165. TRAVASSOS, L. (1919): Helmintes parasitos de homen encontrados no Brasil. *Rev. Soc. Brasil Sci.*, **3**: 207-208.
166. ——— (1944): Revisao da Familia Dicrocoeliidae Odhner, 1910. *Monografias de Inst. Oswaldo Cruz*, num. 2: 1-37.
167. VASILIEVA, A. P. (1927): Distomases of the liver of children observed in Turkestan (fascioliasis and dicrocoeliasis). *Trop. Med. i Vet.*, **5**: 36-43.
168. VERSHININ, I. I. (1957): Epizootiology of *Dicrocoelium* infections of sheep and its biology in the Kaluga region. *Trudi Moskov. Veter. Akad.*, **19** (2, Pt. 1): 3-15.
169. ——— (1957): Survival of *Dicrocoelium dendriticum* eggs in natural conditions. *Trudi Moskov. Veter. Akad.*, **27**: 70-84.
170. ——— (1958): Pathological changes in the liver of sheep infested with *Dicrocoelium* in relation to the intensity infection. *Trudi Moskov. Veter. Akad.*, **27**: 70-84.
171. VSELEINOV, G. D. (1962): Study of the development of *Dicrocoelium dendriticum* in Bulgaria. *Invest. na Tsentral. Khelminitol. Labor. Sofia.*, **7**: 127-135.
172. VOGEL, H. (1929): Beobachtungen über *Cercaria vitrina* und deren Beziehung zum Lanzettelgelproblem. *Arch. Schiffs u. Tropen. Hyg.*, **33**: 474-489.
173. ——— y FALCAO, J. (1954): Über den Levenszyklus Lanzettelgels *Dicrocoelium dendriticum* in Detschland. *Zeitsch. f. Tropen. u. Parasitol.*, **5**: 275-296.
174. VSEVOLODOV, B. P. (1940): Morbid anatomical changes in the liver of sheep with dicrocoeliasis. *Trudi Kazakhs. Nauch. Issl. Vet. Inst.*, **3**: 303-328.
175. WILLEMOES-SUHM, R. v. (1871): Zur Entwicklungsgeschichte des kleinen Leberegels. *Ztschr. f. Zool.*, **21**: 175-179.
176. YAMAGUTI, S. (1958): *Systema Helminthum*. Vol. I y II. Digenetic Trematodes. Interscience Pub. New York.
177. YENIKOMSHIAN, H. A y BERBERIAN, D. A. (1934): The occurrence and distribution of human helminthiasis in Syria and the Lebanon, with case reports on *Cercaria vitrina* and *Hymenolepis nana* infestations. *Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. Trans.*, **27**: 425-435.
178. ZARNIK, B. (1910): Über den Entwicklungszyklus von *Dicrocoelium lanceatum*. *Sitzber. Phys. Med. Gesell. zu Würzburg*, **2**: 27-31.
179. ZOTTA, G. (1928): Faune helminthologique humaine en Roumanie. Presence de *Dicrocoelium dendriticum* chez l'homme. *Soc. de Biol. (Paris), Compt. Rend.*, **98**: 1458-1459.

CUADRO NUM. 1  
Mouscos citados en la literatura mundial como hospedadores intermedios I de *Dicrocoelium dendriticum*.

Species	Región del hallazgo	Año	Investigador
ARIONIDAE: <i>Arion sp</i> (FERRUC.)	Europa	1962	SMYTH recopilado por este autor.
ARIOPHANTIDAE:  = <i>Macrochlamys cassidea</i> (BEN.). = <i>Macrochlamys (Euaestenia) cassidea</i> . <i>Euaestenia monticola</i> . = <i>Macrochlamys monicola</i> (PFEIF.). = <i>Macrochlamys (Euaestenia) monticola</i> (PFEIF.).	India-Hills	1940-47	BHALERAO infestac. experimental.
CHONDRINIDAE:  <i>Cochlicopa lubrica</i> (MULL.). = <i>Cionella lubrica</i> (MULL.).	USA-New York USA URSS-Kharkov URSS	1951 1952 1956 1957	MAPES BAKER KLESOV Y POPOVA VERSHININ
COCHLICOPIDAE:  <i>Torquilla frumentum</i> . = <i>Abida frumentum</i> (DRAP.).	Alemania-Turingia Europa Central USA	1932 1937 1962	NÖLLER Y ENIGK MATTES SMYTH recopilado por este autor.
ENIDAE:  <i>Chondrina tridens</i> (MULL.). <i>Ena obscura</i> (MULL.).	URSS-Kharkov Europa Central USA	1956 1937 1962	KLESOV Y POPOVA MAEDER SMYTH recopilado por este autor.

— 254 —

CUADRO NUM. 1 (Cont.)

Species	Región del hallazgo	Año	Investigador
ENIDAE: (Cont.)			
<i>Jamnia sieversi</i> (MOU.)	URSS	1960	SVADZHIAN (facultativo) cit.
<i>Jamnia tridens</i> (RISSO)	URSS	1954	KOTLAN
<i>Zebrina detrita</i> (MULL.).	Europa Central	1929	SVADZHIAN
	Alemania-Turingia	1932	VOGEL
	Alemania-Turingia	1932	NÖLLER
	Suiza-Valais	1935	NÖLLER Y ENIGK
	Europa Central	1936-37	GALLI-VALERIO
	Europa Central	1937	MATTES
	URSS-Armenia	1954	MAEDER
	Checoeslovaquia	1961	SVADZHIAN
	Alemania	1962	GHOSCHAFT
	USA	1962	HORST Y LÄMMLER
	URSS-Kirguiz	1962	SMYTH, recopilado por este autor.
	Bulgaria	1962	TOKOBAEV
	URSS	1956	VESELINOV
	URSS	1960	GRIGORYAN et al.
			SVADZHIAN
EULOTIDAE:  <i>Eulota maacki</i> (GERST.). <i>Fruticola (Eulota) fruticum</i> (MULL.).	URSS-Primorsks URSS-Kharkov URSS	1964 1956 1957	OVCHARENKO KLESOV Y POPOVA VERSHININ
HELICIDAE:  <i>Cochlicella acuta</i> (MULL.). <i>Euomphalia selecta</i> (KLIKA)	Escocia URSS	1951 1960	CAMERON SVADZHIAN (facultativo) cit. p. KOTLAN.
<i>Euomphalia revergieri</i> (FERRUC.)	URSS	1960	SVADZHIAN (facultativo) cit. p. KOTLAN.

— 255 —

CUADRO NUM. 1 (Cont.)

Species	Región del hallazgo	Año	Investigador
<b>HELICIDAE: (Cont.)</b>			
<i>Fruticocampylaea marzanensis</i> (KRYN.)	URSS-Cáucaso	1962	POPOV y KALITINA
<i>Helicella candaharica</i> (PFEIF.)	URSS-Armenia	1954	SVADZHIAN
	URSS	1945	SAMADOV
<i>Helicella (Helicopsis) crenimargo</i> (PFEIF.)	URSS-Armenia	1954	SVADZHIAN
	URSS-Armenia	1956	GRIGORYAN
<i>Helicella (Xeropicta) derbentina</i> (KRYN.).	URSS-Armenia	1954	SVADZHIAN
	URSS-Armenia	1956	GRIGORYAN
<i>Helicella ericetorum</i> (MULL.).	Alemania	1936-37	MATTES
= <i>Helicella itala</i> (L.).	Escocia	1951	CAMERON
	USA	1962	SMYTH recopilado por este autor.
	Bulgaria	1951	PAVLOV
<i>Helicella obvia</i> (ZIEG.) HARTMAN.	Europa Central	1929	VOGEL
<i>Xerophila candidula</i> .	Alemania-Turingia	1932	NOLLER y ENIGK
= <i>Helicella candidula</i> (STUD.) y (POIR).	Europa Central	1936	MATTES
	URSS-Moscú	1934	SKOVORTSOV
	USA	1962	SMYTH recopilado por este autor.
	URSS	1960	SVADZHIAN (facultat.) cit. p.
<i>Helix (Helocogena) vulgaris</i> (RSSM.).	URSS	1960	KOTLAN.
<i>Metaphraticola pratensis</i> (PFEIF.).	URSS	1960	SVADZHIAN (facultat.) cit. p.
<i>Trichia eichwaldi</i> (PFEIF.) <i>Subfam. Fonticolinae.</i>	URSS-Cáucaso	1962	KOTLAN.
<i>Theba carthusiana</i> (MULL.) <i>subf. Thebinae.</i>	Europa Central	1937	POPOV y KALITINA infestc.
	USA	1962	experim.
			MAEDER
			SMYTH recopilado por este autor.

CUADRO NUM. 1 (Cont.)

Species	Región del hallazgo	Año	Investigador
<b>HELICIDAE: (Cont.)</b>			
<i>Theba carthusiana</i> var. <i>minor</i> (MULL.).	URSS-Reg. Mar Azov	1937	PUKHOV et al.
<i>Theba fruticicola</i> (DRAP.).	Alemania	1932	NOLLER y ENIGK
= <i>Euomphalia strigella</i> (DRAP.).	URSS y Europa Central	1034	SZIDAT
	Europa Central	1937	MATTES
	URSS-Reg. Mar Azov	1937	PUKHOV et al.
	URSS-Kharkov	1956	KLESOV y POPOVA
	USA	1962	SMYTH recopilado por este autor.
	URSS-Kharkov	1956	KLESOV y POPOVA
<i>Zenobiella rubiginosa</i> (SCHM) <i>Subf. Fonticolinae.</i>	Europa Central	1932	NOLLER y ENIGK
	Europa	1962	SMYTH recopilado por este autor.
<b>LIMACIDAE:</b>			
<i>Agriolimax agrestis</i> (L.).			
<i>Limax</i> sp. (L.).			
<b>VITRINIDAE:</b>			
<i>Vitrina bonelli</i> (TARG. TOZZERTI)	Europa Central	1937	SCHMID
<b>ZONITIDAE:</b>			
<i>Zonotoides nitidus</i> (MULL.) <i>Subf. Gastrodontinae.</i>	URSS-Armenia	1954	SVADZHIAN
	URSS-Kharkov	1956	KLESOV y POPOVA
<i>Oxychilus derbentinus</i> (BOET.) <i>Subf. Gastodontinae.</i>	URSS	1960	SVADZHIAN (facultativo) cit. p.
			KOTLAN

CUADRO NUM. 1 (Cont.)

Species	Región del hallazgo	Año	Investigador
ACUATICOS			
PLANORBIDAE:			
<i>Armenia brunnea</i> (RSSM.)	URSS	1960	SVADZHIAN (facultat.) cit. p.
<i>Planorbis complanatus</i> (STUD.)	Europa	1962	KOTLAN.
= <i>Planorbis planorbis</i> (L.).			SMYTH recopilado por este autor.
<i>Planorbis marginatus</i> (DRAP.)	Europa	1962	SMYTH recopilado por este autor.

CUADRO NUM. 2

*Causas más frecuentes de decomiso de hígados en bovinos y ovinos. Matadero Municipal de León. 1963. (1).*

*Bovinos de más de 5 años.*

Meses.	Núm. de sacrificios controlados	HIGADOS DECOMISADOS		
		«Dist.»	«Dist.» + Hidat.	Hidat.
Enero .....	190	83	18	1
Febrero .....	85	58	8	0
Marzo .....	170	86	21	1
Abril .....	220	161	20	2
Mayo .....	205	143	12	0
Junio .....	180	131	15	0
TOTALES	1.050	662	94	4

Causas y % de los decomisos hepáticos .....	{	Por «Distomatosis» .....	63,0 %
		Por «Distomatosis» + Hidatidosis ..	8,9 %
		Por Hidatidosis ..	0,37 %
TOTAL .....			72,27 %

*Ovinos de más de 2 años.*

Meses.	Núm. de sacrificios controlados	Hígados decomisados		
		«Dist.»	«Dist.» + Hidat.	Hidat.
Enero .....	490	300	39	3
Febrero .....	115	40	13	1
Marzo .....	210	80	20	2
Abril .....	360	145	36	2
Mayo .....	105	38	9	1
Junio .....	40	13	6	1
TOTALES	1.320	616	123	9

Por «Distomatosis» .....	46,6 %
Por «Distomatosis» + Hidatidosis ..	9,3 %
Por Hidatidosis ..	0,6 %
TOTAL .....	
	56,5 %

(1). En la inspección de carnes figura el decomiso de hígado por «distomatosis», sin diferenciar fasciolosis y dicrocoeliosis.

CUADRO NUM. 3

Reses afectadas de fasciolosis y dicrocoeliosis hepática.  
Matadero Municipal de León. Diciembre de 1962. (1)

Bovinos de más de 3 años.

Procedencia	Núm. Reses	FASCIOLOSIS		DICROCOELIOSIS	
		Posit.	Neg.	Posit.	Neg.
Paradilla	11	11	—	3	8
Pardesivil	12	12	—	1	11
Vegamián	13	13	—	2	11
Villaseca	9	5	4	2	7
Villaturiel	1	1	—	1	—
<b>TOTALES</b>	<b>46</b>	<b>42</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>37</b>

Tasa de infestación por Fasciolosis ..... 91,3 %  
Tasa de infestación por Dicrocoeliosis ..... 19,5 %

Ovinos.

Procedencia	Núm. Reses	Edad	Fasciolosis		Dicrocoeliosis	
			Posit.	Neg.	Posit.	Neg.
Alcántara y Trujillo (Cáceres) ...	21	+ de 2 años	10	11	1	20
Bariones	16	+ de 2 años	12	4	2	14
Mansilla de las Mulas	40	11-14 meses	0	40	0	40
Mansilla Mayor	14	+ de 2 años	10	4	1	13
Matadeón	22	+ de 2 años	7	15	0	22
Ponferrada	8	+ de 2 años	8	0	6	2
Sahagún	40	11-14 meses	0	40	0	40
San Cristóbal de Entreviñas (Zamora)	10	+ de 2 años	10	0	2	8
San Juan de Torres	9	+ de 2 años	9	0	2	7
Villamuñio	60	11-14 meses	0	60	0	60
<b>TOTALES</b>	<b>240</b>		<b>66</b>	<b>114</b>	<b>14</b>	<b>226</b>

Tasa de infestación por Fasciolosis ..... 27,5 %  
Tasa de infestación por Dicrocoeliosis ..... 5,8 %

(1). Los resultados de este cuadro corresponden a la Inspección bromatológica del hígado, por lo que son inferiores a los que rinden una investigación parasitológica más cuidadosa (Ver Cuadro Núm. 4).  
Todos los casos de dicrocoeliosis coincidieron con fasciolosis.

CUADRO NUM. 4

Resultados del examen por disección de la vesícula biliar y de la masa hepática de bovinos de más de dos años.  
Matadero: F. R. I. L. E. S. A. León. Año 1965. Meses: Junio a noviembre.

PROCEDENCIA	Núm. Reses	DICROCOELIOSIS				Positivas a Fasciolosis
		NEGAT.	POSITIVAS			
		Vesic.	Masa	Total		
Alcoba de la Ribera	1	—	—	1	1	1
Arcahueja	14	1	8	5	13	14
Aviados	15	—	14	1	15	15
Barrio de las Ollas	6	—	5	1	6	6
Cerecedo	4	—	2	2	4	4
Cofiñal	26	—	26	—	26	26
Colle	3	—	3	—	3	3
Correcillas	5	—	3	2	5	5
El Carrizal	28	—	20	8	28	28
Fresno de la Vega	1	—	1	—	1	—
Golpejar	1	—	—	1	1	1
Grandoso	11	—	9	2	11	11
Isoba	2	—	2	—	2	2
La Ercina	3	—	3	—	3	3
La Mata de la Riba	12	—	12	—	12	12
Las Bodas	10	—	7	3	10	10
León	2	—	1	1	2	2
Lodares	6	—	6	—	6	6
Lugán	1	—	1	—	1	1
Llama	3	—	3	—	3	3
Mata de la Bérbula	5	—	5	—	5	5
Nocedo	1	—	1	—	1	1
Otero	14	—	10	4	14	14
Oville	7	—	7	—	7	7
Palazuelo de Boñar	11	—	8	3	11	11
Pallide	32	—	28	4	32	32
Pardesivil	3	—	3	—	3	3
Primajas	24	—	22	2	24	24
Puebla de Lillo	178	—	168	10	178	178
Quintanilla	1	—	1	—	1	1
Ranedo	3	—	3	—	3	3
Redipollos	19	—	17	2	19	19
Reyero	48	—	40	8	48	48
Rucayo	2	—	2	—	2	2
Salamón	1	—	1	—	1	1
San Felixmo	9	—	6	3	9	9
Santa Colomba	46	11	27	8	35	46
Santa Olaja de Porma	4	—	4	—	4	4

CUADRO NUM. 4 (Cont.)

PROCEDENCIA.	N.º Reses	DICROCELIOSIS				Positivas a Fasciolosis
		NEGAT.	POSITIVAS			
			Vesic.	Masa	Total	
Santas Martas .....	1	—	1	—	1	1
Santibáñez de Porma ....	5	—	3	2	5	5
Solanilla .....	4	2	1	1	2	4
Utrero .....	3	—	3	—	3	3
Valdecastillo .....	19	—	19	—	19	19
Valdefresno .....	1	—	—	1	1	1
Valdepiélagos .....	5	—	4	1	5	5
Valdeteja .....	2	—	2	—	2	2
Valdorria .....	13	—	11	2	13	13
Valverde de Valdeteja ....	4	—	4	—	4	4
Veneros .....	4	—	2	2	4	4
Viego .....	6	—	6	—	6	6
Villavente .....	1	—	1	—	1	1
Villafeliz .....	6	—	4	2	6	6
Villamondrín de Rueda ...	3	—	2	1	3	3
Villanueva del Condado ...	3	—	2	1	3	3
Villarrodrigo de las Reg. ...	1	—	—	1	1	1
Villasabariego .....	1	—	1	—	1	1
Vozmediano .....	7	—	3	4	7	7
Voznuevo .....	20	—	12	8	20	20
<b>TOTALES</b>		<b>671</b>	<b>14</b>	<b>560</b>	<b>97</b>	<b>657</b>
					<b>670</b>	

Tasa de infestación mixta (Fasc. + Dicroel.) ..... 97,7 %  
 Tasa de infestación por Fasciolosis ..... 99,9 %  
 Tasa de infestación por Dicroceliosis ..... 97,9 %

CUADRO NUM. 5

Resultados del examen, por disección de la vesícula biliar y de la masa hepática de ovinos de más de dos años.  
 Matadero: F. R. I. L. E. S. A. León. Año: 1965. Meses: sept. a nov.

PROCEDENCIA	Total reses examinadas	DICROCELIOSIS			Fasciolosis Positivas
		Vesic.	Masa	Total	
Ambasaguas .....	4	4	—	4	4
Boñar .....	10	10	—	10	10
Camposolillo .....	22	20	2	22	22
Candanedo .....	9	7	2	9	9
Cármenes .....	3	3	—	3	3
Lugán .....	12	12	—	12	12
Nochedo .....	7	6	1	7	7
Puebla de Lillo .....	37	37	—	37	37
Rucayo .....	12	12	—	12	12
Valdepiélagos .....	11	11	—	11	11
Valdeteja .....	3	3	—	3	3
Vegacervera .....	5	5	—	5	5
Vegaquemada .....	8	7	1	8	8
<b>TOTALES</b>		<b>143</b>	<b>137</b>	<b>6</b>	<b>143</b>
Tasa de infestación por Dicroceliosis .....					100 %
Tasa de infestación por Fasciolosis .....					100 %

CUADRO NUM. 6

Resultados de los análisis coprológicos en bovinos y ovinos.

Bovinos. Abril. 1963

Procedencia.	Núm. Reses	Método coprológico	Fasciolosis		Dicroceliosis	
			Posit.	Negat.	Post.	Neg.
Camposolillo .....	3	Gregoire	3	—	3	—
Cofiñal .....	5	Gregoire	5	—	5	—
Puebla de Lillo .....	15	Carballeira	15	—	15	—
TOTALES .....	23		23		23	
Tasa de infestación por Fasciolosis .....			100 %			
Tasa de infestación por Dicroceliosis .....			100 %			

Ovinos. Marzo, 1963

Procedencia.	Núm. Reses	Método coprológico	Dicroceliosis			
			Posit.	Negat.	Posit.	Neg.
Bariones .....	12	Gregoire	12	—	3	9
Camposolillo .....	25	Carballeira	25	—	25	0
Cofiñal .....	25	Gregoire	25	—	25	0
Lugán .....	16	Carballeira	16	—	16	0
Puebla de Lillo .....	220	Carballeira	220	—	220	0
S. Juan de Torres .....	55	Carballeira	52	3	11	44
TOTALES .....	353		350	3	300	53
Tasa de infestación por fasciolosis .....			99,1 %			
Tasa de infestación por dicroceliosis .....			84,9 %			

Tasa de infestación por fasciolosis en ovinos de la montaña .....	100 %
Tasa de infestación por fasciolosis en ovinos de la meseta .....	95,52 %
Tasa de infestación por dicroceliosis en ovinos de la montaña .....	100 %
Tasa de infestación por dicroceliosis en ovinos de la meseta .....	20,89 %

Tasa de Infestac. mixta dicroc + fasciol en OVINOS .....

94,29 %

CUADRO NUM. 7

Moluscos terrestres hallados en la provincia de León y límitrofes.  
(Se señalan con un signo + los moluscos ya conocidos como hospedadores de *D. dendriticum*).

Familia Género y especie	Hospedador de <i>D. dentrit.</i>	Localidades y fechas
<b>ORDEN MONOTOCARDIA:</b>		
<b>CYCLOSTOMIDAE</b> <i>Pomatia partioti</i> (MULD.)		
En todos los pueblos de los Ayuntamientos de: Puebla de Lillo, Vegamián, Reyero, Los Barrios de Luna, Sena de Luna, Boñar, La Vecilla. Mayo-Julio, 1963; Marzo a Septiembre, 1964.		
<b>ORDEN PROSOBRANCHIA:</b>		
<b>NERITIDAE</b> <i>Theodoxus</i> sp.		
<b>ORDEN PULMONATA:</b>		
<b>COCHLICOPIDAE</b> <i>Cochlicopa lubrica</i> (MULL.) = <i>Cionella lubrica</i> (MULL.)		
+ Burón, Estación Pecuaria del Estado-LE, Vega de Infanzones, Vegas del Condado, Valdepiélagos. Marzo, Junio, Sept. y Octubre, 1963-65-66.		
<b>CHONDRINIDAE</b> <i>Cochlicopa lubrica crassula</i> (FAG.)		
<i>Chondrina avenacea</i> (BRUG.)		
En todos los pueblos de los Ayuntamientos de: Boñar, La Vecilla, Los Barrios de Luna, Puebla de Lillo, Sena de Luna, Reyero, Vegacervera, Vegamián. Mayo-Julio, 1963; Marzo-Sept., 1964.		
<b>ENDODONTINAE</b> <i>Goniodiscus rotundatus</i> (MULL.) <i>Goniodiscus ruderatus</i> (STUD.)		
Pereje, Trabadelo. Diciembre, 1962. Valdepiélagos, Sept. 1963.		

CUADRO NUM. 7 (Cont.)

Familia Género y especie	Hospedador de D. dentrit.	Localidades y fechas
<b>ORDEN PULMONATA: (Cont.)</b>		
<b>ENIDAE</b> <i>Chondrula (Jaminia) quadridens</i> (MULL.)		Los Barrios de Luna, Caldas de Luna, Robledo de Luna, Sena de Luna, Puebla de Lillo, Reyero, Valdepiélagos, Vegamián. Enero-Marzo, 1963.
<b>HELICIDAE</b> <i>Cepaea nemoralis</i>		Cofiñal, Vegamián, La Una, La Magdalena, Barbadillo, Sena de Luna, Caldas de Luna, Mansilla Mayor. Marzo-Noviembre 1962.
<i>Cochlicella acuta</i> (MULL.)		
<i>Cochlicella conoidea</i> (DRAP.)		Vega de Infanzones, Estación Pecuaria del Estado-LE. Mayo 1963.
<i>Cochlicella ventricosa</i> (DRAP.)		Vega de Infazones, León: Carret. Carvajal. Marzo, 1963.
<i>Helicella (Helicella) apicina</i> (LAM.)		Caldas de Luna, Sena de Luna, Quintana del Puente (Palencia), Abril y Agosto, 1963.
<i>Helicella (Xeromagna) arigoi</i> (ROSSM.)		Estac. Pec. del Estado-LE; Vega de Infanzones, León. Abril y Junio, 1965.
<i>Helicella (Helicella) ericetorum</i> (MULL.)		En todos los pueblos de los Ayuntamientos de: Puebla de Lillo, Vegamián, Reyero, Riaño, Puerto de Tarna, Salamón, Lois, Ciguera, La Vecilla, Boñar, Vegaquemada, Valdepiélagos, Valdelugueros, Villablino, Villamanín, Vegacervera, Matalla de Torio, Nocedo, Los Barrios de Luna, Sena de Luna, Estac. Pec. del Estado-LE, Isoba, Perlora (Asturias) y Quintana del Puente (Palencia). Años: 1963-64-65-66.
<i>Helicella (Xerocincta) neglecta</i> (DRAP.)		Vega de Infanzones, Marzo-Junio, 1965.

CUADRO NUM. 7 (Cont.)

Familia Género y especie	Hospedador de D. dentrit.	Localidades y fechas
<b>ORDEN PULMONATA: (Cont.)</b>		
<i>Helicella (Cernuella) variabilis</i> (DRAP.)		León: Laboratorios Ovejero, Carr. Asturias, Carr. Carvajal-LE. Mayo-Julio, 1963.
<i>Helix (Cryptomphalus) aspersa</i> (MULL.)		Desigualmente repartido, pero están en todos los Ayuntamientos citados en este Cuadro.
<i>Helix (Helocogena) vulgaris</i> (RSSM.)		Mansilla de las Mulas, Villafale, Villacotilde. Marzo-Mayo 1962-63.
<i>Helix vitrea</i>		Azadinos, San Pedro Bercianos, Riaño, Mayo 1962.
<b>HELICODONTINAE</b> <i>Helicodonta obvoluta</i> (MULL.)		Valdepiélagos. Agosto, 1963.
<b>PUPILLIDAE</b> <i>Lauria cylindracea</i> (COSTA) = <i>Pupilla cylindracea</i> (M. T.)		Valdepiélagos (Agosto 1963), Sena de Luna (Mayo, 1963), Estación Pec. del Estado (Abril, 1965).
<i>Pupilla muscorum</i> (L.) = <i>Turbo muscorum</i> (L.)		Sena de Luna, Caldas de Luna, Estación Pec. del Estado-LE. Mayo, 1963; Abril, 1965.
<b>THEBINAE</b> <i>Theba carthusiana</i> (MULL.)		Burón, La Una, Puerto de Tarna, Vega de Infanzones. Marzo, 1963; Julio-Agosto, 1965.
<i>Monacha</i> sp.		Trabadelo. Julio, 1963.
<b>VALLONIDAE</b> <i>Vallonia costata</i> (MULL.)		Caldas de Luna, Estación Pec. del Estado-LE; Vega de Infanzones. Julio a sept. 1963.
<i>Vallonia pulchella, var, enniensis</i> (GRED.)		Palazuelo de Boñar; Marzo 1963.
<i>Vallonia pulchella</i> (MULL.)		Estación Pec. del Estado-LE; Julio 1961.

CUADRO NUM. 7 (Cont.)

Familia, Género y especie	Hospedador de D. dentrit.	Localidades y fechas
------------------------------	---------------------------------	----------------------

ORDEN PULMONATA: (Cont.)

VERTIGINIDAE

- Truncatellina cylindrica* (de FER)  
*Vertigo desmoulini* (DRAP.)

Estación Pec. del Estado-LE; Julio 1963.  
Estación Pec. del Estado-LE; Abril 1965.

ZONITIDAE

- Euconulus fulvus* (MULL.)  
= *Hyalina fulva* (MULL.)  
*Oxychilus* sp

Estación Pec. del Estado-LE; Marzo 1963.  
Sena de Luna, Quintana del Puente (Pa-  
lencia). Abril y Agosto, 1963.

CUADRO NUM. 7 bis (Cont.)

Caracoles acuáticos en la provincia de León.

Especies

LYMNAECIDAE:

- Lymnaea (Radix) auricularia* L.

- Lymnaea (Radix) ovata* DRAP.

- ( = *Lymnaea peregra* MULLER)

- Lymnaea (Galba) truncatula*  
MULLER.

- Lymnaea stagnalis* L.

PLANORBIDAE:

- Planorbis corneus* L.

- Planorbis carinatus* MULL.

- Planorbis* sp.

- Physa acuta* DRAP.

- Succinea arenaria* BOUCH.  
CHANT.

- ROSSM.

Palazuelo de Boñar, Riaño, Valdepiélagos,  
La Vecilla, Vega de los Arboles, Mata-  
llana de Torío. Nov. 1962.

Cabrillanes, Mansilla de las Mulas, Par-  
davé, Palazuelo de Boñar, Riaño, San Emi-  
liano. Nov. 1962.

Campo de Santibañez, Lorenzana, Villa-  
fale, Villiguer, Villaverde de Sandoval,  
Vega de Infanzones. Nov. 1963.

Boñar, Campo de Santibañez, Palazuelo  
de Boñar, Puebla de Lillo, Pardavé, Mata-  
llana de Torío, Robledo de Luna, Vega-  
quemada, Vegamián, Vegas del Condado,  
Vega de Infanzones, Villamañán, San Mi-  
llán de los Caballeros. Nov. y dic. 1963.

Laguna Rey (Km 13 Carr. de León-Santa  
María del Páramo), Hospital de Orbigo,  
Ardoncino, Fontechá.

Trabadelo. Sep. 1963.

Trabadelo. Sep. 1963. Astorga, Hospital de  
Orbigo. Jun. 1965.

Palazuelo de Torío. Sep. 1963.

La Bañeza, Astorga, Hospital de Orbigo,  
San Roman de la Vega, Santa Coloma  
de la Vega. Oct. 1963.

Lorenzana, La Bañeza, Astorga. Oct. 1963.

Lorenzana. Oct. 1963.

CUADRO NUM. 8

Resultados del examen de moluscos a los noventa días de la infestación experimental.

Especies	Nº Total	Posit.	Neg.	Muert.	Desapar.
<i>Cionella lubrica</i> .....	23	14	5	2	2
<i>Helicella (H) ericetorum</i> .....	15	4	3	2	6
<i>Helicella (Xerocincta) neglecta</i> .....	15	5	4	1	5
<i>Helicella variabilis</i> .....	25	0	23	2	0
<i>Pomatia partioti</i> .....	18	0	17	1	0
<i>Theba carthusiana</i> .....	5	3	1	1	0

CUADRO NUM. 9

Datos sobre infestación natural de *Helicella itala*.

Año	Procedencia.		Mayo	Junio	Julio	Agost.	TOTAL
1963	Barbadillo	N.º caracoles	45	130	60	50	285
		N.º infestados	23	72	21	30	146
		% infestación	51	55	35	60	50
1963	Los Barrios de Luna	N.º caracoles	—	32	52	36	120
		N.º infestados	—	8	15	14	37
		% infestación	—	25	30	40	30
1963	Puerto de Tarna	N.º caracoles	45	100	60	—	205
		N.º infestados	30	54	51	—	135
		% infestación	66	54	85	—	68
1963	Salamón-Lois	N.º caracoles	—	—	47	10	57
		N.º infestados	—	—	32	7	38
		% infestación	—	—	68	73	70
1965	Cofiñal	N.º caracoles	120	80	—	45	245
		N.º infestados	50	34	—	27	111
		% infestación	41	43	—	60	45
1965	Puebla de Lillo	N.º caracoles	23	114	38	21	196
		N.º infestados	9	73	14	13	109
		% infestación	39	64	37	61	50
1965	Armada	N.º caracoles	—	—	30	45	75
		N.º infestados	—	—	7	14	21
		% infestación	—	—	26	33	29

Total de *H. itala* examinados ..... 1.183  
 Total de *H. itala* infestados ..... 597  
 Tanto por ciento de infestación: media total 50 %

CUADRO NUM. 10

Datos sobre infestación natural de *Helicella (Xerocincta) neglecta*.

Año	Procedencia		Junio	Totales
1965	Vega de Infanzones	N.º de caracoles .....	60	60

CUADRO NUM. 11

Datos sobre infestación natural de *Theba carthusiana*.

Año	Procedencia		Julio	Agosto	Totales
1963	Puerto de Tarna	N.º de caracoles .....	4	3	7

CUADRO NUM. 12

Datos sobre infestación natural de *Cionella lubrica*.

Año	Procedencia		Mayo	Junio	Totales
1965	Vega de Infanzones	N.º de caracoles .....	120	17	137
		N.º infestados .....	6	1	7
		% infestación .....	5	5	5
1965	Vegas del Condado	N.º de caracoles .....	59	26	85
		N.º infestados .....	12	5	17
		% infestación .....	20	19	20

CUADRO NUM. 13

Especies de caracoles investigados en los que no se demostró la infestación natural por *Dicrocoelium dendricum*.

Orden	Familia	Género y especie	Procedencia	N.º Mol.
Monotocardia	Cyclostomidae	<i>Pomatia partioti</i>	Barbadillo	25
		<i>Pomatia partioti</i>	Sena de Luna	17
		<i>Pomatia partioti</i>	Puebla de Lillo	32
Pulmonata	Chondrinidae	<i>Chondrina avenacea</i>	Sena de Luna	12
		<i>Chondrina avenacea</i>	Barbadillo	24
		<i>Chondrina avenacea</i>	Vegamián	11
Enidae		<i>Chondrula (Jaminia) quadrident</i>	Robledo de Luna	10
		<i>Chondrula (Jaminia) quadrident</i>	Reyero	8
		<i>Chondrula (Jaminia) quadrident</i>	Puebla de Lillo	54
Helicidae		<i>Cepea nemoralis</i>	Burón	14
		<i>Cepea nemoralis</i>	Cofiñal	11
		<i>Cepea nemoralis</i>	Robledo de Luna	21
Pupillidae		<i>Cochlicella acuta</i>	Vega de Infanzones	12
		<i>Cochlicella conoidea</i>	Vega de Infanzones	14
		<i>Cochlicella ventricosa</i>	Vega de Infanzones	10
Valloniidae		<i>Helicella (H.) apicina</i>	Caldas de Luna	21
		<i>Helicella (Xeromagna) arigoi</i>	Vega de Infanzones	12
		<i>Helicella (Cernuella) variabilis</i>	León, Carr. Asturias	52
Vetiginidae		<i>Helix (Cryptomphalus) aspersus</i>	Puebla de Lillo	18
		<i>Pupilla muscorum</i>	Caldas de Luna	13
		<i>Pupilla muscorum</i>	Estac. Pec. Estado	21
		<i>Vallonia costata</i>	Vega de Infanzones	9
		<i>Vallonia pulchella</i>	Estac. Pec. Estado	15
		<i>Vallonia pulchella, variedad enniensis</i>	Estac. Pec. Estado	7
		<i>Trucatellina cylindrica</i>	Estac. Pec. Estado	19

CUADRO NUM. 14

Orden y fechas de emisión de «bolas de mucus» por *Helicella itala* infestados naturalmente y características de las mismas.

N.º orden	1965 Fechas	Procedencia	N.º de esférulas por «bola de mucus»
1. <sup>a</sup>	2-V-	Lillo-Mina de Talco	9
2. <sup>a</sup>	6-V-	Lillo-Mina de Talco	8
3. <sup>a</sup>	7-V-	Cofiñal	10
4. <sup>a</sup>	7-V-	Barbadillo	7
5. <sup>a</sup>	9-V-	Barbadillo	4
6. <sup>a</sup>	9-V-	Lillo-Mina de Talco	12
7. <sup>a</sup>	10-V-	Barbadillo	11
8. <sup>a</sup>	14-V-	Cofiñal	8
9. <sup>a</sup>	16-V-	Cofiñal	3
10. <sup>a</sup>	16-V-	Cofiñal	6
11. <sup>a</sup>	5-VII-	Puerto de Tarna	13
12. <sup>a</sup>	12-VII-	Camposolillo	3
13. <sup>a</sup>	12-VII-	Puerto de Tarna	5
14. <sup>a</sup>	12-VII-	Camposolillo	8
15. <sup>a</sup>	19-VII-	Puerto de San Isidro	7
16. <sup>a</sup>	19-VII-	Puerto de San Isidro	12
TOTAL .....			126
Media de esférulas en cada «bola de mucus» .....			7,8

CUADRO NUM. 15

Especies de hormigas consideradas como hospedadores intermedios II de D. d.

Species	País o región del hallazgo	Investigador	Infestación Natur. Exper.
<i>Formica cinerea</i> (MAYR)	URSS	1962	POPOV y KALITINA
<i>Formica cunicularia</i> (SCHENK).	Alemania	1954	VOGEL y FALCAO
= <i>F. rufibarbis</i> var. <i>fuscofusca</i>			Nat. Exper.
<i>Formica fusca</i> (L.)	Alemania	1962	HOHORST
	USA	1952	KRULL y MAPES
	Alemania	1954	VOGEL y FALCAO
	URSS	1956	SVADZHYAN
	URSS	1957	VERSHININ
	Bulgaria	1962	VESELINOV
<i>Formica fusca glebaria</i> (NYL.)	Checoslovaquia	1961	GROSCHAFT
= <i>F. glebaria</i> (NYL.)	Alemania	1954	VOGEL y FALCAO
<i>Formica pagana</i> (LATR.)	URSS	1962	POLOV y KALITINA
<i>Formica picea</i> (NYL.)	URSS	1958	KLESOV y POPOVA
<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)	Checoslovaquia	1961	GROSCHAFT
	URSS	1956	SVADZHYAN
<i>Formica rufibarbis</i> (FABR.)	URSS	1956	GRICORYAN
	URSS	1960	SVADZHYAN
	Alemania	1960	GRICORYAN y AKOPYAN
	Alemania	1961	HOHORST y GRAEFE
	Checoslovaquia	1962	HOHORST y LAMMLER
	URSS	1961	GROSCHAFT
<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)	URSS	1956	SVADZHYAN
<i>Proformica nasuta</i> (NYL.)	URSS	1960	SVADZHYAN

CUADRO NUM. 16

Resultados de la identificación de hormigas procedentes de diversos nichos. Fecha:  
25 de junio de 1965. (1).

Hormiguero Núm.	Procedencia	Especie identificada
1	Barbadillo	<i>Formica rufibarbis</i> (FABR.)
2	Cofiñal	<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)
3	Cofiñal «Los Edos»	<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)
4	León. Cuarteles Carr. Asturias	<i>Formica rufibarbis</i> (FABR.)
5	León. Jardín Fac. Veterinaria	<i>Formica rufibarbis</i> (FABR.)
6	Puebla de Lillo. Mina de Talco	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
7	Puebla de Lillo. Mina de Talco	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
8	Redipollos	<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)
9	Redipollos	<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)
10	Redipollos	<i>Formica pratensis</i> (RETZ.)

(1). Todas las hormigas eran obreras y soldados, indistintamente.

Nota.—La totalidad de las especies de este Cuadro ha sido identificada por el Dr. COLLINWOOD (EE. UU.).

CUADRO NUMERO 17

Resultados de la identificación de hormigas procedentes de diversos nichos. Fecha:  
13 de agosto de 1965 (1).

Hormiguero Núm.	Procedencia	Especie identificada
1	Barbadillo	<i>Myrmica ruginodis</i> (NYL.)
2	Cofiñal	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
3	Cofiñal	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
4	Cofiñal	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
5	Cofiñal	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
6	León. Jardín Viejo Hospicio	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
7	León. La Corredera	<i>Messor barbarus</i> (L.)
8	León. La Corredera	<i>Messor barbarus</i> (L.)
9	León. Cuarteles Carr. Asturias	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
10	Malillos de los Oteros	<i>Messor barbarus</i> (L.)
11	Puerto de San Isidro	<i>Myrmica ruginodis</i> (NYL.)
12	Puerto de San Isidro	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
13	Redipollos	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
14	Redipollos	<i>Formica sanguinea</i> (LATR.)
15	Riaño	<i>Tetramorium caespitum</i> (L.)

(1).—La totalidad de las especies de este cuadro ha sido identificada por el Dr. ALVAREZ SANCHEZ, J., del Instituto de Edafología del C. S. I. C. Madrid.

### CUADRO NUMERO 18

*Resultados de la disección de hormigas natural y experimentalmente infestadas. Fecha: marzo a noviembre de 1965*

ESPECIE	INFESTACION							
	NATURAL				EXPERIMENTAL			
	Total disecadas	Negat.	Posit.	Infestac. %	Total disecadas	Neg.	Posit.	Infestac. %
<i>Formica pratensis</i> .....	550	549	1	0,1	84	71	13	15
<i>Formica rufibarbis</i> .....	1.598	1.590	8	0,06	—	—	—	—
<i>Formica sanguinea</i> .....	395	393	2	0,5	—	—	—	—
<i>Myrmica ruginodis</i> .....	326	326	0	—	—	—	—	—
<i>Messor barbarus</i> .....	198	198	0	—	—	—	—	—
	3.067	3.056	11	—	84	71	13	—

## CUADRO NUMERO 19

#### Número de metacercarias por hormiga, infestadas natural o experimentalmente

INFESTACION					
Natural		N.º de metacercarias por hormiga			
	Especie		Experimental		
<i>Formica sanguinea</i>	.....	1	<i>Formica pratensis</i> .....	228	
»	»	14	»	»	114
<i>Formica pratensis</i>	.....	1	»	»	1
<i>Formica rufibarbis</i>	.....	3	»	»	138
»	»	6	»	»	115
»	»	9	»	»	3
»	»	29	»	»	7
»	»	42	»	»	170
»	»	67	»	»	125
»	»	53	»	»	20
»	»	20	»	»	50
TOTAL .....		245	»	»	351
			»	»	260
			TOTAL .....		1.582

## CUADRO NUM. 20

Medidas de metacercarias procedentes de treinta hormigas naturalmente infestadas (15 *Formica rufibarbis* y 15 *F. sanguinea*) y treinta experimentalmente infestadas (*F. pratensis*), expresadas en micras.

Infestadas Naturalmente <i>Formica rufibarbis</i>				Infestadas Experimentalmente <i>Formica pratensis</i>			
N.º	Long.	Anch.	Espesor cubierta	N.º	Long.	Anch.	Espesor cubierta
1	422	296	21	1	290	190	20
2	424	296	37	2	280	180	20
3	424	307	37	3	300	170	22
4	402	275	21	4	290	170	19
5	424	307	28	5	300	180	21
6	392	265	21	6	310	190	20
7	371	275	19	7	300	190	19
8	402	307	28	8	300	190	20
9	380	260	21	9	290	170	15
10	412	294	21	10	300	190	20
11	390	275	26	11	320	190	22
12	408	296	28	12	310	190	19
13	415	310	30	13	300	180	16
14	410	306	28	14	310	190	19
15	396	260	21	15	310	150	20
	6.072	4.329	387				
<i>Formica sanguinea:</i>							
16	413	280	26	16	310	180	20
17	420	310	28	17	300	170	19
18	426	310	31	18	300	180	19
19	430	310	38	19	290	180	20
20	425	300	28	20	290	170	19
21	396	275	21	21	280	180	20
22	406	275	21	22	300	170	21
23	410	296	19	23	300	210	15
24	405	275	20	24	310	190	19
25	408	304	22	25	300	180	20
26	380	267	19	26	300	190	19
27	394	272	20	27	390	180	20
28	389	268	19	28	290	170	19
29	398	274	21	29	290	170	19
30	425	310	32	30	300	190	20
	6.125	4.332	365		8.960	5.430	581

## RESUMEN

	Longitud				Anchura				Cubierta			
	Ruf.	Sang.	Prat.	Total	Ruf.	Sang.	Prat.	Total	Ruf.	Sang.	Prat.	Total
Máxima	424	430	320	391	310	310	210	276	37	38	22	32
Mínima	371	380	280	343	260	267	150	225	19	19	15	17
Media	404	408	298	370	288	288	181	252	25	24	19	22



Fig. 1. Moluscario en placa de Petri, con ejemplares de *Cionella intrica*.



Fig. 2. Id. id. con *Helicella itala*



Fig. 3.—Cuatro ejemplares de *Helicella itala*: (tres en posición ventral y uno dorsal). Oídos cuatro ejemplares de *Helicella variabilis* (tres en posición dorsal y uno ventral). Dos ejemplares de *Helicella* (*Xerocincta*) *negle- ita* (uno ventral y otro dorsal). Cuatro de *Cionella lü- brica*.



Fig. 4. *Helicella variabilis*. (DRAP.)

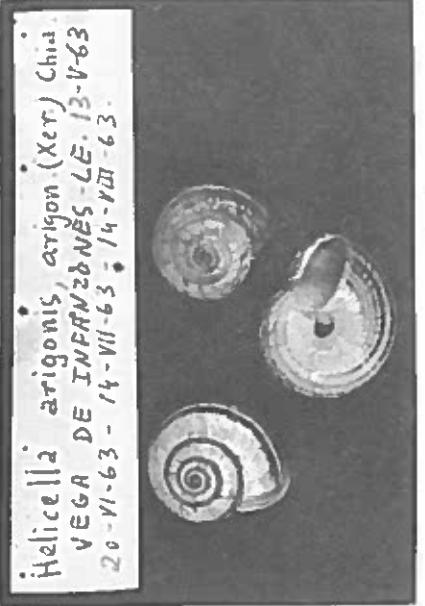


Fig. 5. *Helicella itala* (= *H. erice- torum*).



Fig. 6. *Helicella arigoni*.



Fig. 8. *Chondrina avenacea*.



Fig. 9. Ejemplar de *Helicella itala*, emitiendo «bolas de mucus».



Fig. 10. Masa de «bolas de mucus».

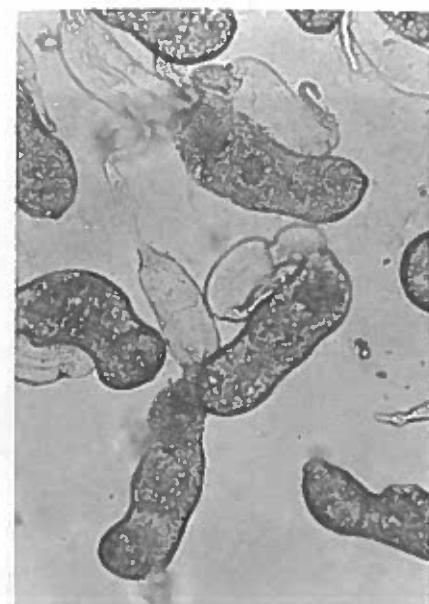


Fig. 12. Grupo de cercarias vitrinas. Las formaciones globulosas que se aprecian en la cola son consecuencia de las contracciones rítmicas del apéndice.

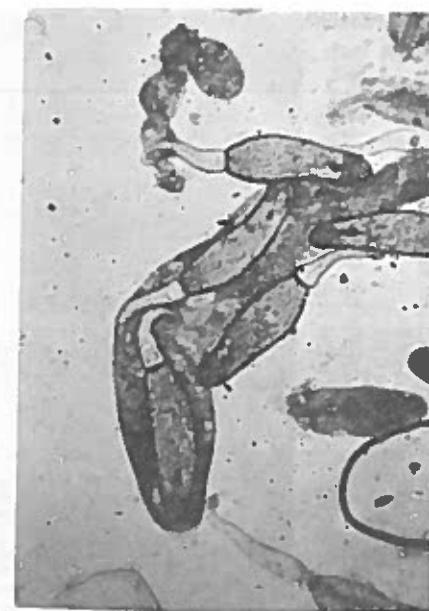


Fig. 11. Esporocisto de II orden, conteniendo varios ejemplares de *Cercaria vitrina*, algunos de los cuales abandonan el saco.



Fig. 13. *Cercaria vitrina*: son patentes las dos ventosas.



FORMICA PRATENSIS  
VEGAMIAN - LE.  
Sept - 1963

Fig. 14. *Formica pratensis*.

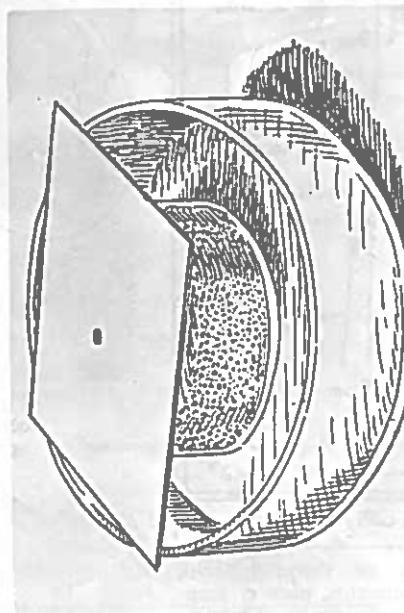


Fig. 15. Hormiguero en placa de Petri, dentro de un cristalizador, a modo de foso con agua. En torno a la placa puede ponerse una banda rugosa, que permite que se salven de perecer ahogadas las hormigas que hubieran podido caer al agua.

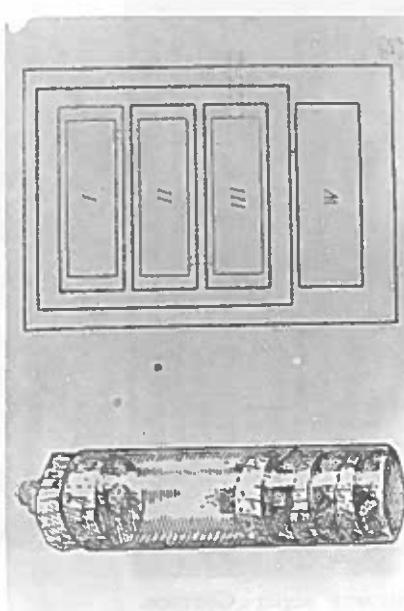


Fig. 16. Hormigueros tubular y de yeso (A y B), según Goritsch. El agua, en el compartimento W del yeso, tiende a mantener un ambiente suficientemente húmedo.

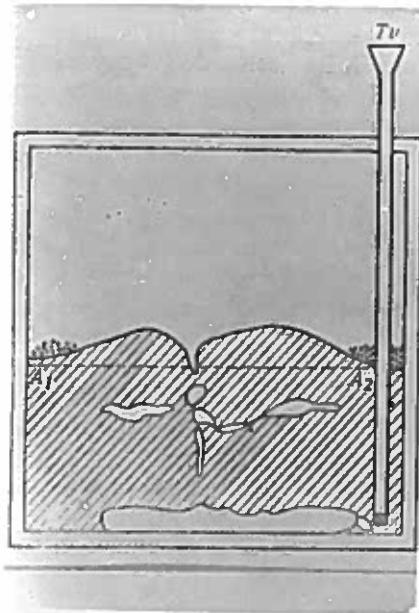


Fig. 17. Hormiguero según GOETSCH. Puede confeccionarse en cristal, salvo la base, para facilitar las observaciones. A través del tubo *Tv* se introduce agua. En la parte superior, en vez de tierra, nosotros hemos puesto una capa de 2 cm o más de piedras.

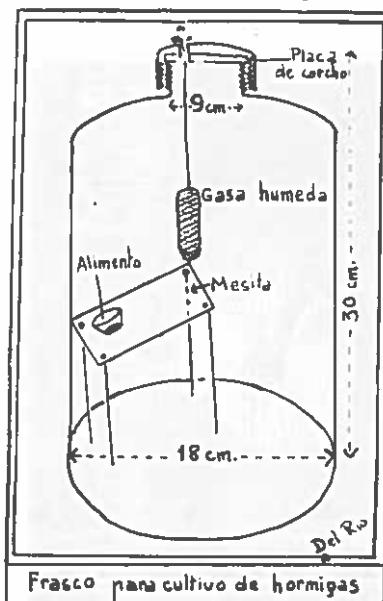


Fig. 18. Frasco de vidrio topacio, con otros aditamentos, para el mantenimiento de hormigas en el laboratorio, diseñado por nosotros.

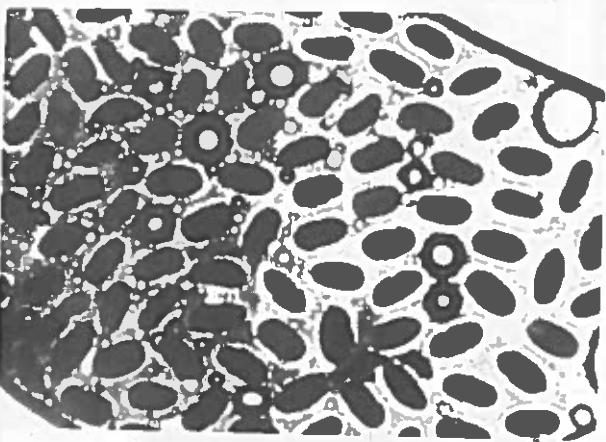


Fig. 19. Masa de metacercarias de *D. d.*, procedentes del abdomen de *Formica pratensis*. Su número da idea de la magnitud de la infestación en algunos ejemplares.

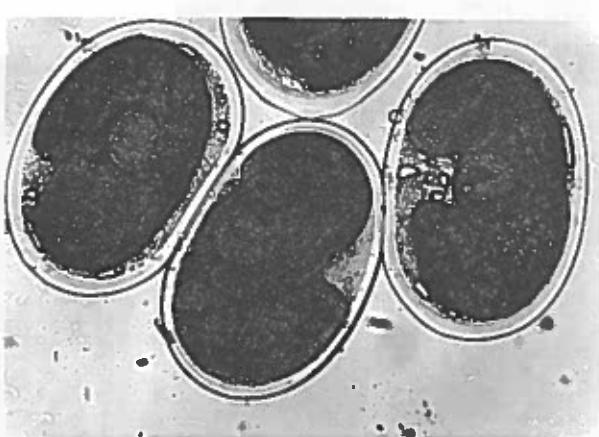


Fig. 20. Metacercarias de *D. d.*, procedentes de *Formica rufibarbis*. Se aprecia el grosor de la pared quística y las dos ventosas.

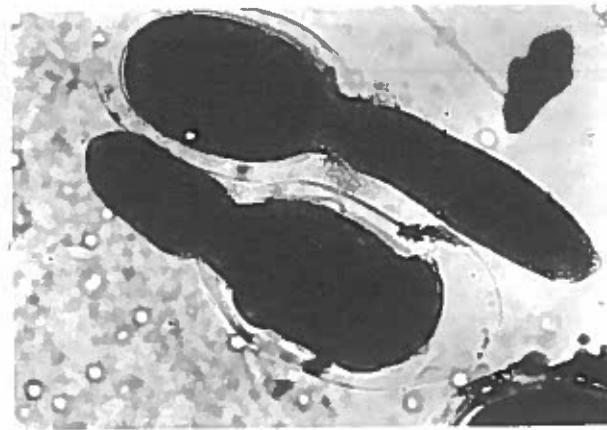
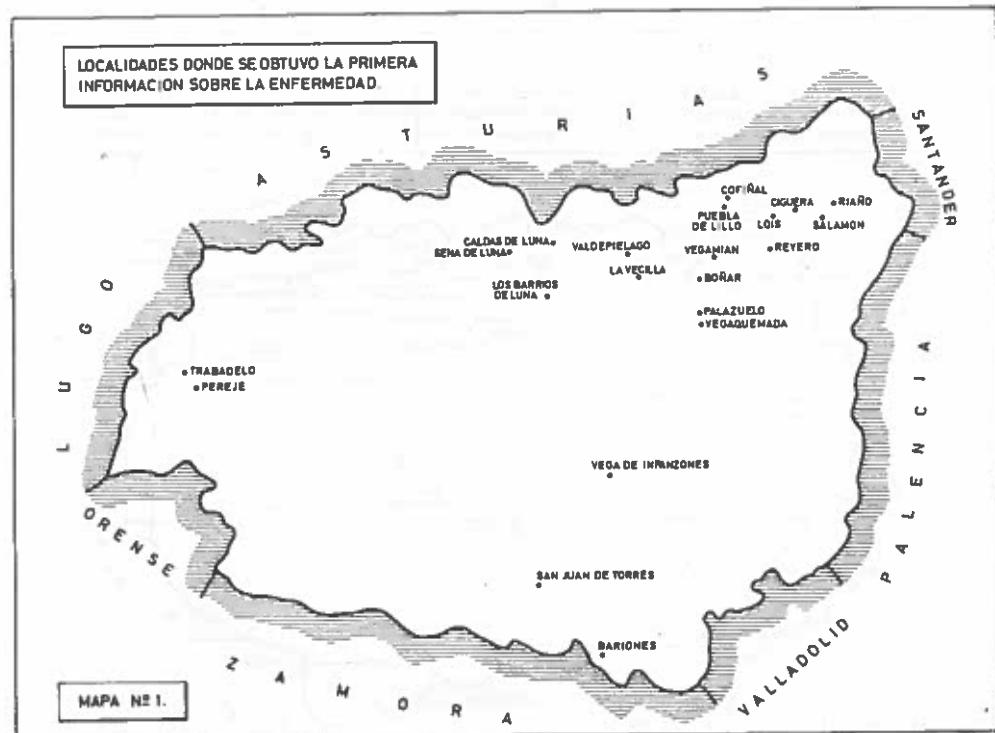
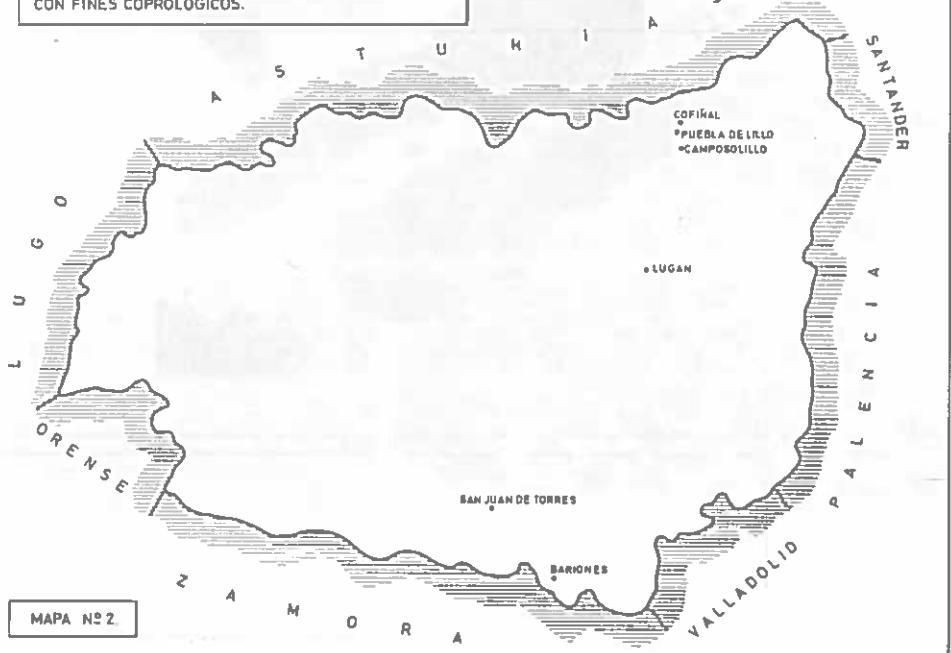


Fig. 21. Metacercarias de *D. d.*, abandonando el quiste.



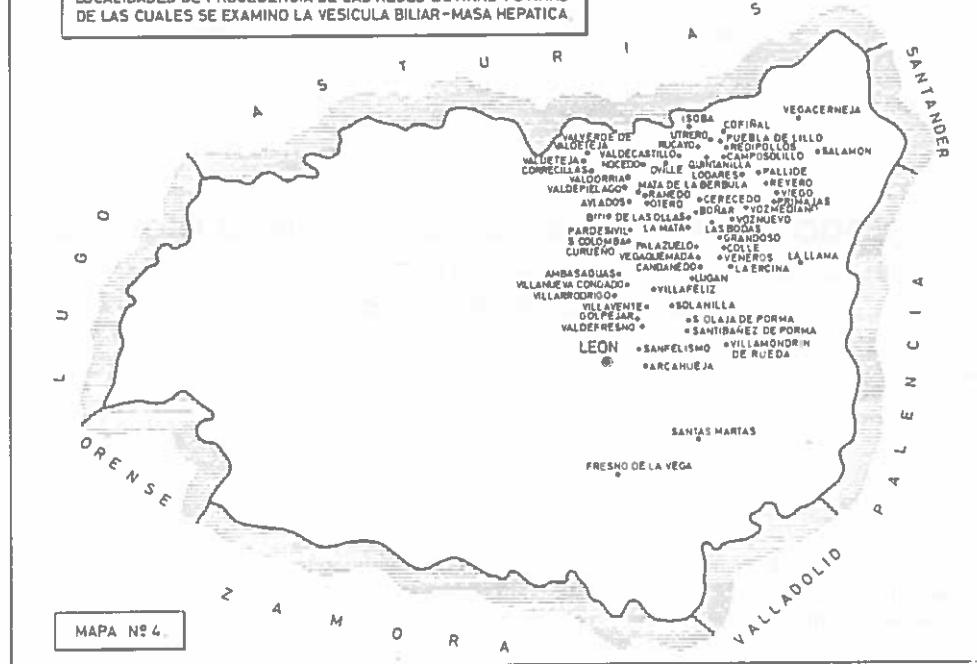
**LOCALIDADES DONDE SE EFECTUO LA TOMA DE HECES CON FINES COPROLOGICOS.**



LOCALIDADES DE PROCEDENCIA DE LOS MOLUSCOS TERRESTRES  
RECOPILADOS PARA SER EXAMINADOS COMO POSIBLES HOSPEDADORES  
INTERMEDIARIOS DE *D. d* (*Dicrocoelium-dendriticum*)



## LOCALIDADES DE PROCEDENCIA DE LAS RESES BOVINAS Y OVINAS DE LAS CUALES SE EXAMINO LA VESICULA BILIAR - MASA HEPATICA.



**LOCALIDADES DONDE SE HAN HALLADO MOLUSCOS TERRESTRES CON INFESTACIÓN NATURAL DE *D. d.* (*Dicrocoelium-dendriticum*).**

