

CONTRIBUCION AL ESTUDIO EPIZOOTIOLOGICO DE LA ESQUISTOSOMIASIS BOVINA (*Schistosoma bovis*) EN LA PROVINCIA DE SALAMANCA *

Por *Vicente Ramajo Martín*

INDICE

INTRODUCCION.—1. REVISION BIBLIOGRAFICA.—1.1. El parásito y su posición sistémica.—1.2. Hospedadores definitivos naturales.—1.3. Hospedadores experimentales.—1.4. Distribución geográfica.—1.5. Frecuencia y efectos patógenos.—1.6. Fenómenos inmunitarios.—1.7. Ciclo biológico.—1.8. Huevos.—1.9. Miracidio.—1.10. Esporocistos.—1.11. Cercaria.—1.12. Hospedadores intermediarios naturales.—1.13. Infestación natural de los hospedadores intermediarios.—1.14. Infestación artificial de moluscos.—2. INVESTIGACIONES PERSONALES.—2.1. MATERIALES Y MÉTODOS.—2.1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PARÁSITO.—2.1.1.1. Coprológia.—2.1.1.2. Aislamiento de vermes.—2.1.1.3. Fases larvarias.—2.1.2. RECOGIDA, IDENTIFICACIÓN Y OBSERVACIÓN DE MOLUSCOS.—2.1.3. MANTENIMIENTO Y CULTIVO DE MOLUSCOS EN EL LABORATORIO.—2.1.4. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL DE MOLUSCOS.—2.1.4.1. Características de los lotes de moluscos.—2.1.4.2. Fuente de huevos.—2.1.4.3. Observaciones sobre la vitalidad de los huevos.—2.1.4.4. Obtención, observación, aislamiento y recuento de miracidios.—2.1.4.5. Exposición a los miracidios.—2.1.4.6. Mantenimiento y observación de los moluscos infestados.—2.1.5. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN RATONES.—2.1.5.1. Características de los lotes de ratones.—2.1.5.2. Obtención y recuento de cercarias.—2.1.5.3. Exposición a las cercarias.—2.1.5.4. Observación y estudio de los ratones infestados.—2.1.6. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN CORDEROS.—2.1.7. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN ERIZOS.—2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.—2.2.1. DISTRIBUCIÓN DEL PARÁSITO EN LA PROVINCIA.—2.2.2. COPROLOGÍA Y AISLAMIENTO DE VERMES.—2.2.2.1. Frecuencia y grado de infestación en los rumiantes de las diferentes zonas.—2.2.2.2. Experiencias sobre la resistencia de los huesos en el medio ambiente.—2.2.2.3. Observaciones sobre el miracidio.—2.2.3. HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS.—2.2.3.1. Identificación e infestación natural.—2.2.3.2. Distribución provincial y habitats.—2.2.3.3. Mantenimiento y cultivo de moluscos en el laboratorio.—2.2.3.4. Fases larvarias intramolusco.—2.2.3.4.1. Esporocistos.—2.2.3.4.2. Cercarias.—2.2.3.5. Infestación experimental de moluscos.—2.2.3.5.1. Período de patencia.—2.2.3.5.2. Emisión de cercarias.—2.2.4. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN RATONES.—2.2.5. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN CORDEROS.—2.2.6. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN ERIZOS.—2.3. CONCLUSIONES.—2.4. RESUMEN.—3. BIBLIOGRAFIA.

* Trabajo realizado en el Centro de Edafología y Biología Aplicada (C.S.I.C.) de Salamanca, bajo la dirección del Dr. F. Simón Vicente.

INTRODUCCION

Los esquistosomas que se presentan en los animales, además de su importancia como agentes de posibles epizootias, desempeñan un gran papel en la problemática general de las esquistosomiasis.*

Existen esquistosomas que parasitan en diferentes especies de animales, y también en el hombre, que por tener una morfología y biología muy semejantes resultan difíciles de distinguir. Así ocurre, por ejemplo, con algunos miembros del llamado complejo *haematobium*, al que pertenece *Schistosoma bovis*. Se han demostrado en ciertos casos, fenómenos de inmunidad cruzada, utilizando determinadas especies del hombre y de los animales, y fenómenos de hibridación entre ellas.

Por otra parte, queda mucho que investigar en lo que se refiere a las relaciones parásito-molusco hospedador, de tanta importancia para interpretar la distribución, difusión y lucha contra estas enfermedades.

La Organización Mundial de la Salud, consciente de tales hechos, viene considerando como dignos de especial atención, una serie de temas entre los que cabe destacar: la diferenciación de esquistosomas del hombre y de las especies afines de los animales; la determinación específica de las de animales; la determinación específica de los moluscos hospedadores y la recogida de cuanta información sea posible sobre la frecuencia y distribución mundial de las esquistosomiasis animales.

La esquistosomiasis bovina es una parasitosis denunciada hace pocos años en España, acerca de la cual es preciso efectuar los estudios necesarios que permitan ir penetrando en el conocimiento de las particularidades que probablemente ofrecerá en nuestro país.

El presente trabajo intenta ser una aportación útil en este sentido.

1. REVISION BIBLIOGRAFICA

1.1. El parásito y su posición sistemática.

Schistosoma bovis (SONSINO, 1876), BLANCHARD, 1895, sinónimo de *Bilharzia crassa*, SONSINO, 1888, pertenece, de acuerdo con la sistemática de YAMAGUTI, (1950) al Género *Schistosoma*, WEILAND, 1850, = (*Gynecophorus*, DIESING, 1858; *Bilharzia*, COBBOLD, 1859; *Thecosoma*, MOQUIN-TANDON, 1860), que es el género tipo de la familia Schistosomatidae. POCHÉ, 1907, Subfamilia Schistosomatinae, STILES y HASSALL, 1898.

La determinación específica de los diferentes esquistosomas es un grave problema aún no

* El informe técnico de la O. M. S. n.º 372, (1967), en su apartado de recomendaciones, aconseja adoptar oficialmente el sustantivo esquistosomiasis, para designar esta enfermedad tanto en el hombre como en los animales.

resuelto, lo que repercute naturalmente sobre los estudios epidemiológicos y epizootiológicos de las parasitosis por ellos originadas.

Como causas más destacadas de dudas y errores de interpretación tenemos: La semejanza morfológica que existe entre algunos de estos trematodos, tanto en sus formas adultas como embrionarias; las diferencias entre cepas biológicas y geográficas y las posibilidades de hibridación que presentan ciertas especies afines.

Con el fin de aclarar la situación, se ha tratado de establecer agrupaciones de especies que exhiben algunos caracteres anatómicos comunes, y así se habla por ejemplo de complejo *haematobium*, FAUST, RUSSELL y LINCICOME, (1961); FRAGA DE AZEVEDO, (1969), para designar aquellos esquistosomas que tienen una espina terminal polar en la cubierta de sus huevos. Sobre esta misma característica morfológica y otras biológicas del género *Schistosoma*, PITCHFORD, J. (1965), ha reunido los esquistosomas africanos en tres grupos de especies:

A) Grupo *haematobium*; con *S. haematobium*, (BILHARZ, 1852), WEILAND, 1858, y *S. capense*, (HARLEY, 1864).

B) Grupo *bovis*; con *S. bovis*, (SONSINO, 1876), *S. mattheei*, VECILIA y LE ROUX, 1929, *S. curassoni*, BRUMPT, 1931, y *S. leiperi*, LE ROUX, 1955.

C) Grupo *intercalatum*; con *S. intercalatum*, FISHER, 1934.

Al mismo tiempo propone que, mientras no se aporten nuevas observaciones y pruebas, se considere a *S. capense* como sinónimo de *S. haematobium* y a *S. curassoni* como sinónimo de *S. mattheei*.

TAYLOR, G. (1970), con sus experiencias de hibridación entre los grupos *haematobium* y *mansoni*, persigue entre otros fines, aclarar la taxonomía de estos grupos. Prueba la validez de las especies *S. bovis* y *S. mattheei*, deduciendo que esta última especie y *S. haematobium* se han mantenido aisladas genéticamente por diferencias en la especificidad de hospedador definitivo, y que a *S. bovis* y *S. haematobium* le ocurre lo mismo, pero con una diferencia posible, que la hibridación natural de *S. mattheei* X *S. haematobium* puede ocurrir en la naturaleza probablemente, en tanto que la de *S. bovis* X *S. haematobium* es menos probable.

SONSINO en abril de 1876, describió por primera vez la especie *S. bovis*, en ganado vacuno de Zagazig (Egipto), (Brumpt, E. 1930). En las numerosas descripciones dadas después del parásito, además de sus dimensiones, la mayoría de los autores coinciden en asignar a los machos un número de testículos entre tres y seis (número más frecuente cuatro), (FRAGA DE AZEVEDO, PRATES y SAMPAIO, 1954; SOBRERO, R. 1960, y en las hembras destacan la posición de los órganos genitales que es posterior a la mitad del cuerpo, SCHWETZ, (1951). No obstante estas características son también comunes a *S. haematobium* y otros miembros del grupo que encabeza esta especie, por lo que para la identificación específica de *S. bovis* no bastan los rasgos morfológicos de los vermes adultos, que suelen ser más grandes y gruesos que *S. haematobium*, (FAUST, RUSSELL y LINCICOME, 1961) sino que hace falta conocer además dimensiones de los huevos y relaciones biológicas con los hospedadores definitivos.

Efectivamente, las dimensiones de *S. bovis* son muy variables, LENCY, J. (1962), y van desde 4, 5-12 mm. en los machos y 5,5-14 mm. en las hembras hasta 12-28 mm. para ambos sexos como cifras extremas. En opinión de LENCY, (loc. cit.), las mayores garantías para la diferenciación de especies las ofrecen las medidas y algunos detalles estructurales de los huevos; éste sería el único medio de distinguir las tres especies más parecidas: *S. haematobium*, *S. mattheei* y *S. bovis*. Se pronuncian en el mismo sentido, ALVES, W. (1949) y PITCHFORD, (1965) quienes realizan cálculos biométricos en series de huevos con arreglo a unas fórmulas e índices que ellos mismos proponen.

En el aspecto biológico de la especificidad del hospedador DINNIK, A. y DINNIK, N. (1965) resaltan las diferencias entre *S. mattheei* y *S. bovis*.

1.2. Hospedadores definitivos naturales.

Para DINNIK, (loc. cit.), los bovinos domésticos se consideran como los hospedadores específicos de *S. bovis*. Siguen en orden secundario, y de forma más o menos accidental u ocasional los ovinos, caprinos y equinos, (BORCHERT, 1964; LAPAGE, G. 1959), y todavía en otro de menos

importancia el camello, SOBRERO, (loc. cit.), algunas especies de antílopes y de primates, LAPAGE, (loc. cit.), PITCHFORD, (loc. cit.), y suidos (NEVEU-LEMAIRE 1942; GRETILLAT, S. 1962).

Una lista de los hospedadores más conocidos la constituirían:

Bos taurus
Ovis aries
Capra hircus
Camellus dromedarius
Asinus asinus
Equus caballus
Sus scrofa
Phacochoerus aethiopicus
Limnotragus spekei
Papio porcarius
Cercopithecus pygerythrus

Se ha citado en algunas ocasiones al hombre como hospedador de *S. bovis* (CAWSTON, 1921; RAPER, 1951; DE MEILLON, 1953; KISNER *et al* 1953; PITCHFORD, 1959), citados por LENGY, (loc. cit.) y (MAHFOUZ 1927; SOLIMAN 1956; KISNER *et al* 1953), citados por ARFAA, F. (1965), pero estos casos basados en el hallazgo de huevos son de poca validez epidemiológica. Por otra parte, Mc HATTIE, NILLS y CHADWICK, (1953), citados por LAPAGE, (loc. cit.), después de intentar la infestación en la especie humana con *S. bovis*, son del parecer de que este parásito no se presenta en el hombre. LENGY, (loc. cit.) admite como únicos intentos positivos las infestaciones del hombre con *S. bovis* y de bóvidos con *S. haematobium* llevadas a cabo por KUNTZ y MALAKALIS, (1955). Más recientemente Mc. MAHON, J. (1969) opina que los huevos de *S. bovis* hallados en algunas ocasiones en heces humanas en Tanzania, proceden de la ingestión de intestinos bovinos, siendo por lo tanto falsas parasitosis (Dapassanten = Transéintes intestinales). PITCHFORD (loc. cit.) y FRAGA DE AZEVEDO (loc. cit.), después de poner de relieve la falta de infestaciones naturales en el hombre en zonas de frecuente incidencia de *S. bovis*, opinan que la susceptibilidad de la especie humana a este esquistosoma es débil o nula.

CARTA, A. y DEIANA, S. (1934), describen una dermatitis papular que aparece en la piel de los individuos que se sumergen en lagunas donde existen *Bulinus* infestados con fases de *S. bovis* en Cerdeña, donde BroCCA, E. (1960), la reproduce experimentalmente, también en la especie humana.

DESCHENS, R. (1969), analizando qué clase de infestaciones por esquistosomas son zoonosis distingue: La zoonosis *sensu stricto* que es producida por *S. japonicum* y *S. mansoni*, las *sensu lato* originadas por los de aves y mamíferos que no pasan del hombre a los animales y que sólo producen dermatitis, y una tercera categoría que se transmiten al hombre en algunas zonas, constituida por *S. bovis* y *S. mattheei*.

1.3. Hospedadores experimentales.

La infestación experimental con *S. bovis*, se ha logrado en ratones, ratas, cricetos y cobayas, animales utilizados corrientemente también para ensayos de laboratorio con diversas especies de esquistosomas. De todos ellos el más receptivo es el criceto, LENGY, (loc. cit.), pero el más manejable y por supuesto el de menor coste es el ratón, lo que justifica que sea generalmente el más preferido.

Los primeros ensayos los realizó BRUMPT, también con éxito en *Erinaceus europaeus* (erizo europeo).

El roedor *Tatera indica*, se emplea igualmente en algunos laboratorios. ARFAA, (loc. cit.), se servía de él como hospedador para el mantenimiento de una de las dos cepas de *S. bovis* que se rescan en el *International Register of Living Helminth Species and Strains*, (1966), en Khuzestan (Irán).

En el mono *Macaca mulata* (mono *Rhesus*), ya demostró BRUMPT, (citado por SMITHERS, S. y TERRY, J. 1969), que *S. bovis*, no alcanza la madurez. No obstante, dicho animal se ha convertido en el de elección para trabajos sobre quimioterapia y ensayos sobre inmunidad cruzada entre *S. bovis* por un lado y *S. mansoni* y *S. haematobium* por otro, SMITHERS, (loc. cit.).

GEAR, H. *et al*, (1966), dan una relación de roedores salvajes receptivos a los esquistosomas, en la que figuran *Lophuromys flavopunctatus* y *Praomys (Mastomys)-natalensis* como aptos para ser infestados por *S. bovis*.

1.4. Distribución geográfica.

BRUMPT, (loc. cit.), ofreció la distribución geográfica conocida hasta 1930, señalándolo en: *Africa*; Egipto (SONSINO, 1876), República Sudafricana, (CAWSTON, 1920), Países del Africa Oriental (Sudán, Etiopía, Kenya, Uganda, Tanzania, Zambia, Rhodesia), (BRUMPT, loc. cit.), Somalia, (CROVERI, 1919), *Asia*, Unión India, (BOMPHORD, 1896), Federación de gran Malasia y Península Indochina (Laos, Vietnam del Norte y del Sur, Camboya y Tailandia), (RAILLIET, 1899). *Europa*; Sicilia. (GRASSI y ROVELLI, 1888; BARBAGALLO, 1889), Cerdeña, (SAN FELICE *et al*, 1897; BERTOLINI, 1908; ALCEO, 1926) y Córcega, (BRUMPT, 1930).

Posteriormente se ha citado en: Iraq, (McHATTI y CHADWICK, 1932), Tunicia, (ANDERSON y GOBERT, 1934), Mozambique, (FRAGA DE AZEVEDO, *et al*, 1954), Kinshasa, (SCHWETZ, 1955), Irán, ARFAA, 1959), Israel, (LENGY, 1962).

En España, SÁNCHEZ BOTUJA, R. (1954), encontró por primera vez a *S. bovis* en ganado ovino de la provincia de Avila y SIMÓN VICENTE, F. (1969), lo señaló en la de Salamanca parasitando bovinos, ovinos y caprinos.

Es interesante recoger en este apartado las conclusiones de DINNIK, y DINNIK, (loc. cit.), sobre los esquistosomas de los rumiantes en Africa Oriental, porque estos autores encuentran suficientes razones en el estudio de las migraciones humanas y animales en Africa, a través de la historia, para explicar la distribución de dichos esquistosomas en otras partes del mundo y su diferenciación específica.

Según ellos, *S. bovis* ocupa una zona bien definida en el Noroeste, que llega por el Suroeste hasta el Norte de Zambia, aproximadamente a los 10° S. El parásito llegaría a Africa procedente de Arabia, y fue introducido con el cebú árabe que penetró en olas sucesivas después del año 2000 antes de Cristo, de acuerdo con las teorías de FAULKNER y EPSTEIN, (1957) y PAYNE, (1964) sobre migraciones.

Se supone que *S. bovis*, adaptándose muy bien al ganado vacuno autóctono, habría competido, probablemente con ventaja, con *S. mattheei*, hasta desplazarlo en diversos puntos. *S. mattheei* como esquistosoma indígena se sostendría en sus hospedadores definitivos indígenas, distribuyéndose con preferencia por el Sureste de Africa.

La esquistosomiasis bovina en el centro-oeste del continente no parece estar producida por *S. bovis*. En Senegal y Mauritania, GRETILLAT, (loc. cit.), no encontró el parásito durante las encuestas realizadas en esas regiones, suponiendo que *S. curassoni* es el esquistosoma que asume el papel de agente etiológico de esta enfermedad en los animales y el hombre; pero CAPRON, A. *et al*, (1965), se inclina a pensar que *S. curassoni*, procedente de una cabra de Mauritania estudiada por GRETILLAT, es en realidad *S. bovis*.

1.5. Frecuencia y efectos patógenos.

Los índices de frecuencia registrados varían ampliamente, según los autores, con la región geográfica y la especie de animales hospedadores definitivos que padecen la parasitosis.

En Cerdeña, BERTOLINI, según FIEBICER (loc. cit.) encontró a *S. bovis* parasitando el 9 % de los bovinos, mientras que en Sicilia según el mismo autor, GRASSI y ROVELLI hallan hasta un 75 % de casos entre el ganado ovino.

ARFAA, (1965), obtiene el parásito en el 14 % de los bovinos y el 20 % de los ovinos examinados en Khuzestán (Irán).

Por su parte, SOBRERO, (loc. cit.), aísla *S. bovis*, en el 38 % de los bovinos por él encuestados en Somalia en 1960, pero sólo en un dromedario de los 328 autopsiados.

En Kenia DINNIK, y DINNIK, (loc. cit.), aseguran que las esquistosomiasis en general (no sólo las debidas a *S. bovis*), se presentan a veces hasta en un 100 % de los bovinos.

El primer foco de esquistosomiasis descubierto en España, SÁNCHEZ BOTUJA, R. (1954), presentó una morbilidad del 64 % con alta proporción de casos graves.

El efecto patógeno de *S. bovis*, parece ser semejante al de las especies que, como *S. mattheei*

en los bovinos y *S. haematobium* en la especie humana, pueden tener las mismas localizaciones en el hospedador definitivo.

SONSINO, citado por CARTA, A. (1947), observó procesos inflamatorios de la vejiga urinaria, e intestinos grueso y delgado, con aumento de la mucosidad alrededor de la válvula ileocecal. BERTOLINI, citado por CARTA, (loc. cit.), encontró enteritis catarral crónica, con hemorragias y nódulos puntiformes microscópicos submucosos.

CARTA, (loc. cit.), describe esclerosis hepática y focos reaccionales en el parénquima esplénico, y concluye que la gravedad de las lesiones está en relación con el grado de infestación y duración de la enfermedad.

SÁNCHEZ BOTIJA, (loc. cit.), observó en ovinos enteritis catarral con pigmentación en intestino grueso y equimosis en cuajar e intestino delgado. En el aparato respiratorio, aparecía edema y focos neumónicos pequeños, así como pigmentación oscura. Los focos nodulillares estaban constituidos por huevos del parásito incluidos en los capilares y rodeados por una infiltración celular, como ocurría también en hígado y bazo.

SIMÓN VICENTE, (loc. cit.), señaló hemorragias en la mucosa intestinal con destrucción del epitelio glandular y nódulos parasitarios formados alrededor de los pequeños vasos de la submucosa, producidos por el paso a través de ellos de los huevos del parásito. En el parénquima hepático observó también granulomas de este tipo.

HUSSEIN, F. (1969), en infestaciones experimentales en terneros con *S. bovis* y *S. matthei*, observa la producción de granulomas en diferentes tejidos hacia los 60 días, pero no advierte lesiones en vejiga ni colonias poliposas en recto.

1.6. Fenómenos inmunitarios.

Los fenómenos inmunitarios en esquistosomiasis humana están obteniendo un gran desarrollo, y por lo que se refiere al papel de *S. bovis* en estos estudios hay que apuntar que existen pruebas de que la inmunización de individuos con cercarias de este parásito, resulta positiva frente a las infestaciones con *S. mansoni* y *S. haematobium* (SADUM, E. y BIOCCA, E. 1962, Hsü, S. et al. 1966 y 1969).

Esta posibilidad explicaría la mayor gravedad de ciertas esquistosomiasis en la especie humana en aquellas zonas donde no se produzca una transmisión concomitante con esquistosomas bovinos, NELSON, G. y AMIN, M. (1959).

EVELAND, L. K., Hsü, Li y Hsü, H. F. (1969), han demostrado inmunidad cruzada en monos, entre *S. mansoni* y *S. bovis*, pero no entre *S. bovis* y *S. japonicum* lo que parece debido a un grado diferente de correlación filogenética entre estas últimas especies de esquistosomas.

1.7. Ciclo biológico.

Al igual que sucedió en los casos de los esquistosomas humanos, desde el descubrimiento de *S. bovis* en 1876 hasta que se llegó a conocer su ciclo evolutivo completo, transcurrió un largo espacio de tiempo.

Como se ha dicho, BRUMPT, (loc. cit.) describió todas las fases cíclicas del parásito en 1930. Haremos un breve recordatorio del ciclo. El parásito adulto, en su localización en las venas mesentéricas del hospedador definitivo realiza la puesta y los huevos atraviesan las capas intestinales que salen a la luz del intestino y llegan al exterior con el embrión ya formado. Al caer al medio acuoso, la dilución de las heces, y una temperatura y luminosidad adecuadas facilitan la salida del miracidio, que después de nadar libremente, puede encontrar un molusco apropiado en el cual penetra. El desarrollo intramolusco desemboca en la formación de esporocistos primarios y secundarios en el hepatopáncreas del hospedador. Estos últimos se llenan de cercarias del tipo furcocercaria que abandonan el caracol a medida que van madurando. La cercaria, provista de glándulas líficas, perfora la piel del hospedador definitivo, pierde la cola y comienza la emigración por el organismo, vía linfática y sistema vascular, para llegar a los pulmones y desde aquí seguir diversas vías. Una por la vena pulmonar, corazón izquierdo y circulación arterial al sistema portahepático y desde él a las venas mesentéricas. La otra vía sería, capilares pulmonares y emigración a través del parénquima pulmonar, perforando también el diafragma y el tejido hepático, para seguir por el sistema venoso a las mesentéricas, LENGY, (loc. cit.).

1.8. Huevos.

Se les han asignado unas dimensiones que oscilan entre 180-280 × 40-95 micras. KHALIL, (1924) y McHATTIE et al, (1933) citados por PITCHFORD, (loc. cit.); LAPAGE, (loc. cit.); EUZEBY, J. (1958). Ahora bien, dentro de ellas caen por regla general las que han sido tomadas de huevos dentro del útero de las hembras y las obtenidas de huevos en situación tisular y en las heces.

BRUMPT, (loc. cit.), opina que la mayoría de las medidas citadas por SONSINO y otros muchos autores, se refieren a los huevos *in utero*, obteniendo así tamaños menores y unas grandes variaciones morfológicas.

La especie de hospedador definitivo influye también sobre el tamaño de los huevos.

Los datos de morfología, tamaño, y alguna característica especial observada en series numerosas de huevos tienen, en opinión de algunos, ALVES, (loc. cit.) y PITCHFORD (loc. cit.), un estimable valor taxonómico para diferenciar este grupo de esquistosomas, como se dijo al principio, aunque por sí solas no sean siempre suficientes.

LENGY (loc. cit.), estudia como factores que afectan la incubación y eclosión: La luz, la temperatura y la salinidad del agua. La luz favorece la incubación, la oscuridad no la impide pero la retrasa, la temperatura de 20 a 30° C la favorece y por debajo de 8° C y más de 37° C la inhibe. La salinidad la inhibe también.

1.9. Miracidios.

BRUMPT, (loc. cit.), señala que la eclosión del embrión de *S. bovis*, se produce a los diez minutos de contacto con el agua, en presencia de la luz natural o de un foco eléctrico y a 20-25° C. LENGY, (loc. cit.), da un margen de 2 a 30 minutos para la eclosión a temperaturas de 20 a 30° C.

En cuanto a la morfología PORTER, A. (1938), describe cuatro células en llama, situadas en posición parecida a las del miracidio de *S. haematobium*.

LENGY, (loc. cit.), comparando los detalles obtenidos en el miracidio de *S. bovis* con los de *S. haematobium* afirma que estructural y morfológicamente fueron indistinguibles. Dichos miracidios miden de 156 × 37 micras, cuando están relajados, y en completa extensión 218 × 79 micras.

A su vez CAPRON, et al, (loc. cit.), en el estudio del miracidio de *S. haematobium* confirman la idea de LENGY, es decir, ciliatura discontinua en placas epidérmicas separadas, dos poros excretorios posteriores, cuatro células flamígeras o solenocitos, dos glándulas de penetración y un «cerebro» o ganglio nervioso, aparte de otros detalles.

1.10. Esporocistos.

PORTER, (loc. cit.), observa esta fase en la glándula digestiva del hospedador intermediario, como una formación dactilar en los esporocistos de primera y segunda generación.

Las fases intramolusco han sido muy bien estudiadas por LENGY, (loc. cit.), en *B. contortus*, mantenidos a temperatura constante de 28° C. En estas condiciones dos horas después de haber penetrado el miracidio ya puede considerarse como esporocisto primario en desarrollo, con un tamaño de 140 × 60 micras. A los 9 días los esporocistos primarios son unas formaciones alargadas de 940 × 625 micras pudiendo contener entre 15 y 45 esporocistos hijos con un tamaño de 93-165 × 20-33 micras. Las paredes de este esporocisto primario son muy finas. Los esporocistos hijos se desarrollan en los tejidos del caracol hacia el noveno día.

CAPRON, (loc. cit.), da para los esporocistos primarios de *S. bovis*, *S. haematobium* y *S. mansoni*, dos localizaciones a partir del 5.º día, la tentacular o peritocular y la renal o paleal. A partir del 9.º día, se inicia la emigración a través de los tejidos y entre el 10.º y 13.º días se encuentran en el hepatopáncreas para la fase de esporocisto secundario.

El tamaño señalado por LENGY, para los esporocistos secundarios totalmente desarrollados puede variar mucho, suelen tener alrededor de 1,95 × 0,19 mm.

Cada esporocisto secundario, puede albergar hasta 40 cercarias bien desarrolladas.

1.11. Cercaria.

En el estudio original del ciclo de *S. bovis*, BRUMPT, (loc. cit.), resalta la gran coincidencia que él encuentra entre las dimensiones de las especies *S. bovis*, *S. haematobium* y *S. mansoni*. Para la primera obtiene unas cifras de 160×50 micras, para el cuerpo; $220-240 \times 30$ micras, para el tronco de la cola; $70-80 \times 15$ micras, para las ramas de la cola. Al mismo tiempo da como número probable de células en llama el de diez, aunque por dificultades de observación admite que podría ser ocho. Este autor cree que la dotación de glándulas cefálicas de *S. bovis* está constituida por diez, divididas en dos grupos uno anterior hialino, y otro posterior, lo que han confirmado también otros autores, LENGY, (loc. cit.). El cuerpo y la cola aparecen totalmente recubiertos de espinas.

Siempre, según el primer autor citado, las cercarias maduran dentro de los esporocistos secundarios localizados en el hepatopáncreas del molusco hospedador y, a su parecer, abandonan el molusco tanto durante el día como durante la noche, cuando la temperatura está alrededor de los 25°C . A lo largo de sus primeras observaciones, no advirtió emisiones de cercarias superiores a las 500-600 diarias, que salían por la cavidad paleal del molusco en pequeños grupos. Su vitalidad a 25°C era de corta duración y muy pocas de ellas seguían vivas a las 48 horas de ser emitidas.

PORTER, (loc. cit.), recoge unas dimensiones del cuerpo algo mayores que las dadas por BRUMPT, así como ocho células flamígeras y una dotación de cinco pares de glándulas cefálicas.

En cuanto a la vitalidad, advierte que es más activa en agua caliente, pero cuando la temperatura de ésta llega cerca de los $45-50^{\circ}\text{C}$, la cercaria muere.

CARTA y DEIANA, (loc. cit.) describen la cercaria de *S. bovis* con medidas y caracteres morfológicos que concuerdan en general con las dadas por BRUMPT y concretan en diez el número de células en llama.

Biocca, (loc. cit.), confirma la existencia de las áreas ciliadas en el canal excretor principal, citadas por otros autores en *S. haematobium* (GORDON *et al.* 1934, cit., por Biocca).

LENGY, (loc. cit.), afirma que según nuestros conocimientos actuales la cercaria de este parásito no se puede distinguir de las de otras especies de esquistosomas.

1.12. Hospedadores intermediarios y su distribución.

En el molusco *Bulinus contortus*, es donde BRUMPT, en 1930, demostró por primera vez la infestación natural de *S. bovis*, en Monacia (Córcega).

Le Roux y Biocca (1951), DEIANA, (loc. cit.) señalan esta misma especie de molusco en Cerdeña, como hospedadora del esquistosoma bovino que así mismo aparece en Tunicia, ANDERSON y GOBERT (1953). ARFAA, H. (loc. cit.), en Irán, asegura que *B. truncatus*, es el caracol intermediario en aquella región. LENGY (loc. cit.) en Israel encuentra también *B. truncatus* en el mismo papel de hospedador. PITCHFORD (loc. cit.) apunta que los hospedadores intermediarios clásicos para *S. bovis* en África son moluscos del grupo *B. truncatus* pero que se ha atribuido a otros del grupo *Bulinus africanus*, el papel de hospedadores en Sudán (MALEK, 1959), Kenya (NELSON *et al.* 1962), Somalia (SOBRERO, 1960), Kinshasa (SCHWETZ, 1951) y República Sudafricana (PORTER, A. 1938).

WRIGHT, C. A. (1966), en su trabajo sobre relaciones entre esquistosomas y sus moluscos hospedadores en África, señala que *S. mansoni* tiene como hospedadores intermediarios al género *Biomphalaria*, en tanto que los esquistosomas que forman el complejo con espina terminal (complejo *haematobium*) se hospedan en el género *Bulinus*. El primer género se distribuye a ambos lados del Atlántico, Eurasia y África incluyendo Egipto, Israel y Arabia, pero no progresa hacia el Este, en el Irak. El género paleártico *Planorbis* está bastante emparentado con él. Los *Bulinus* no están representados en América, y de los diferentes grupos, *B. truncatus* está ampliamente distribuido por el Mediterráneo y el Oriente Medio. Recientemente se ha señalado en Portugal.

LARIVIERE, M. *et al.* (1969) opinan que el complejo *haematobium* en África Sursahariana está relacionado con tres grupos de *Bulininae*. En el primero se encuentra *Bulinus (B) truncatus*, que es hospedador para *S. haematobium* y *S. bovis* y se distribuyen en la parte Norte de dicha región, comprendiendo Angola y la Zona de los grandes lagos de África Oriental.

BERRIE, D. A. (1970), analiza la problemática malacológica en la esquistosomiasis africana y después de considerar que ha existido un gran confusiónismo en la nomenclatura de las especies de moluscos citados como hospedadores intermediarios, sigue hasta donde es posible la nomenclatura de MANDL-BARTH, (1957) y agrupa todas las especies que él considera válidas en dos géneros: *Biomphalaria* y *Bulinus*. Presenta la información disponible hasta el momento sobre las especies de *Bulinus* africanos y su papel en la transmisión de los esquistosomas. Forma con ellas cuatro grupos, de los cuales el *africanus* con *B. africanus*, *B. nasutus*, *B. globosus* y *B. ugandae* es el principal como hospedador de *S. haematobium*, *S. bovis* y *S. matthei*. El grupo *truncatus* puede ser hospedador potencial para *S. haematobium* y *S. bovis*, mientras que en el grupo *tropicus* no hay pruebas que demuestren sus propiedades como hospedadores. El *forskali* es un pequeño grupo cuya separación del *truncatus* no está clara y actúa como intermediario para *S. haematobium*.

SÁNCHEZ BOTIJA, (loc. cit.), en el primer foco de esquistosomiasis denunciado en España, sospecha que moluscos *Planorbis sp.*, presentes en gran número en las charcas donde abrevaban las ovejas afectadas, pueden ser los hospedadores intermediarios.

SIMÓN VICENTE, (loc. cit.), tras repetidas pesquisas en la provincia de Salamanca, no encuentra otros moluscos más que los *Planorbis sp.*, que tengan probabilidades de servir como hospedadores intermediarios en los focos de esquistosomiasis en esta provincia.

1.13. Infestación natural de los hospedadores intermediarios.

BRUMPT, (loc. cit.), encuentra en Córcega durante el mes de agosto al molusco *B. contortus* infestado en la proporción del 0.5 al 1 %. La densidad en varios de los puntos explorados la estima entre 10-100 por m^2 y los habitats preferentes son lagunas con vegetación acuática.

ANDERSON y GOBERT, (loc. cit.), al estudiar la infestación natural de *B. contortus* en Lúnez, durante el mes de mayo, no citan los porcentajes de infestación que muestran los moluscos recogidos en Sidi Mansour.

Le Roux y Biocca, (loc. cit.), en Cerdeña aíslan *B. contortus* infestados en la proporción del 1 %, durante el mes de octubre en lagunas con vegetación, producidas en el curso interrumpido de pequeños arroyos sobre terrenos graníticos.

DEIANA, (loc. cit.), observa también en Cerdeña el curso de la infestación de *B. contortus* por *S. bovis* a lo largo de los meses de mayo a octubre en tierras costeras encharcadas por el mar, sobre varios millares de moluscos. De su estudio concluye que la infestación se inicia a finales de mayo y principios de junio, adquiere un valor máximo (30-35 %) en agosto y desciende de nuevo en septiembre y octubre hasta un 2 %.

CARTA y DEIANA, (loc. cit.), en *B. contortus* recogidos en varias localidades de Cerdeña observaron valores diferentes de infestación, siendo en mayo de 1-2 %, y a finales de agosto hasta un 30-35 %.

ARFAA, SABBAGHIAN y BUAN (1965), no pueden precisar el porcentaje de *B. truncatus* infestados en una zona del Irán, debido a que dicho molusco es allí hospedador de *S. bovis* y *S. haematobium* y las cercarias de ambos parásitos son indistinguibles morfológicamente.

SOBRERO, (loc. cit.), describe el medio donde se encuentra el molusco posible hospedador, *Bulinus (Physopsis) abisinicus* en Somalia, constituido por aguas estancadas durante la mayor parte del año, procedentes de inundaciones de ríos pero no señala la proporción en la que se hallan infestados.

CHU, K. MASSOUD, J. y ARFAA, F. (1968), estudiando la ecología y dinámica de las poblaciones de *B. truncatus* en Khuzestán (Irán), sobre 32 habitats, opinan que la reproducción intensiva de este hospedador puede ocurrir en cualquier momento entre los meses de mayo a octubre, dependiendo del tipo de habitat. En uno de ellos, donde sólo había moluscos infestados con *S. bovis*, las épocas en las que se observó la infestación fueron octubre-noviembre y abril-mayo, con valores medios del 6 %.

1.14. Infestación artificial de moluscos.—Período de incubación de cercarias.

Siendo abundantísimos los experimentos realizados con los hospedadores de esquistosomas humanos, no puede decirse lo mismo por lo que se refiere a *S. bovis*.

En Africa del Sur, PORTER, (loc. cit.), prueba la receptividad de varias especies de moluscos frente a miracidios de *S. bovis*, y sólo la encuentra en *Physopsis africana*.

KINOTI, G. (1964), en sus experiencias de receptibilidad de moluscos *Bulinus* a *S. bovis* y *S. matthei*, pone de manifiesto que *Bulinus* (*P. africanus ovoidens* es muy receptible a ambas especies, y *Bulinus* (*B. foshali* y *Bulinus* (*P. afriganus africanus*, lo son también en alto grado a *S. bovis*.

CHU, Y. K. *et al.*, (1966), han realizado estudios con *B. truncatus* del Irán infestados con *S. haematobium* y *S. bovis*, en diferentes meses del año y después compararon los períodos de patencia de cercarias. En agosto se obtienen cercarias en un plazo de 15 días para *S. bovis*, y 19 días para *S. haematobium*, y en noviembre el plazo de patencia se prolonga hasta 146 para *S. haematobium* y 133 días para *S. bovis*. En todos los meses este período es más corto para *S. bovis* que para *S. haematobium*.

2. INVESTIGACIONES PERSONALES

2.1. MATERIALES Y METODOS

2.1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PARÁSITO

2.1.1.1. Coprológica.

Se han realizado análisis coprológicos sobre 451 bovinos, 288 ovinos y 197 caprinos, procedentes de 84 municipios de la provincia, cuya localización se puede apreciar en el mapa n.º 1. Todos estos animales eran explotados en régimen extensivo, pertenecían a razas nacionales (morucha y de lidia los bovinos, entrefina los ovinos y serrana los caprinos), y el muestreo efectuado completamente al azar abarcó animales de diversas edades y condiciones.

En el ganado vacuno la recogida de heces fue efectuada directamente del suelo momentos después de defecar los animales, en pequeñas bolsas de plástico con las anotaciones correspondientes para garantizar su procedencia y evitar posibles contaminaciones. Algunas otras fueron recogidas en los mataderos de C.R.A.M.S.A. (Ciudad Rodrigo), M.A.T.O.S.A. (Salamanca), y el Matadero Municipal de Salamanca, extrayéndolos del recto antes de comenzar el faenado de las reses, anotando igualmente en los recipientes los datos de procedencia y características del animal.

Las heces de ovinos y caprinos en su mayoría se sacaron del recto utilizando guantes y operando con los dedos índice y medio; de la misma forma en cada bolsa o grupo de ellas se tomaban notas sobre la procedencia y caracteres del rebaño muestreado.

Cuando descubríamos por primera vez en algún municipio o finca la presencia del parásito, repetíamos la visita y ampliábamos la recogida de heces con el fin de apreciar mejor el grado de infestación y la proporción de animales afectados.

Los análisis se realizaron siguiendo las técnicas de FAUST y cols. (1939), modificada por PARFITT (1958) y XAVIER, M. L. (1965), conservando las heces en

frigorífico hasta el momento de su observación, período que nunca sobrepasó de 12 horas.

Una vez concluidos los análisis, los resultados quedaban anotados en fichas, agrupando en cada una los de la misma procedencia y toda clase de datos sobre edad, grado de infestación si la había, caracteres del terreno y tipo de vida que hacían los animales.

2.1.1.2. Aislamiento de vermes.

Durante los 8 primeros meses del año 1970 se realizaron semanalmente trabajos en los mataderos ya citados, donde se sacrificaba una buena parte del ganado de la provincia. En las salas de tripería tomábamos nota sobre la procedencia de los intestinos que iban llegando, y una vez que el encargado separaba el tubo intestinal del mesenterio, recogíamos éste y en una zona bien iluminada extendíamos la pieza para ir observando por transparencia el recorrido de los vasos, ayudándonos de una ligera presión ejercida a lo largo de ellos con una pequeña espátula o con la yema de los dedos.

Cuando de esta forma era evidenciada la presencia de parásitos en el interior de las venas, recogíamos el despojo y en un recipiente convenientemente etiquetado lo trasladábamos al laboratorio donde se iban extrayendo cuidadosamente los vermes con pinzas, tijeras y finas agujas de disociar.

Los vermes recién aislados se collocaban en solución salina al 8 ‰, y una vez confirmada su identidad se conservaban en formalina al 10 %, anotando en la etiqueta la fecha de aislamiento, los caracteres del animal y su procedencia.

2.1.1.3. Fases larvarias.

Por ser conocida con anterioridad la morfología de huevos y adultos de *S. bovis* en España, SÁNCHEZ BOTIJA, R; (1954), y SIMÓN VICENTE, F. (1969), dedicamos nuestra atención únicamente a aquellas fases del ciclo no descritas entre nosotros.

MIRACIDIOS.—Los miracidios recién salidos del huevo, eran aislados por medio de una pipeta capilar, bajo lupa, y colocados entre porta y cubre en una solución diluida de glicerina neutra al 1:3, o bien en solución de albúmina al 2 %, con el fin de reducir sus movimientos hasta un grado que permitiera observarlos cómodamente.

ESPOROCISTOS.—Esta fase fue aislada de moluscos a diversas fechas de la infestación. Su reconocimiento se realizó en fresco, comprimiendo la masa visceral que incluía hepatopáncreas, vesícula seminal y ovotestes entre dos placas de cristal.

CERCARIAS.—Para el estudio de cercarias seguimos un procedimiento semejante al usado con los miracidios, comparando dimensiones y estructuras de cercarias obtenidas de moluscos naturalmente infestados con las obtenidas de infestaciones experimentales hechas en el laboratorio. También se hicieron coloraciones vitales con rojo neutro al 1:10.000.

2.1.2. RECOGIDA, IDENTIFICACIÓN Y OBSERVACIÓN DE MOLUSCOS.

Evidenciada la presencia del parásito en alguna zona determinada por la coprología o el aislamiento de vermes en los mataderos, nos personábamos en los municipios o fincas de la zona para orientar la recogida de moluscos, no sin antes recabar información de ganaderos y pastores acerca de las aguas (riachuelos, regatos, charcas, estanques, abrevaderos, etc.) que frecuentaban los animales, así como de los hábitos de abrevar y de los contactos que solían tener con estas aguas.

Las recogidas se efectuaron en todas las estaciones del año, siendo más escasas en el invierno y más numerosas y frecuentes en primavera, verano y principios de otoño. Las horas de recogida han sido casi siempre las de la mañana y se aprovechaban los días soleados por ofrecer la luz más facilidad para localizar los moluscos en las aguas.

En aguas poco profundas, se extraían con pinzas o con la mano. En aguas más profundas donde era imposible divisarlos, rastreábamos los fondos con unas palas de malla metálica en la cual quedaban retenidos los moluscos. La recepción y transporte se hacía en recipientes de plástico, de boca ancha, 2 litros de capacidad, con agua hasta 2/3 de su altura, no sobrepasando la cifra de 300 moluscos por cada uno y anotando en su etiqueta todos los datos referentes a la recogida.

La identificación de los moluscos Planorbidae ha sido realizada por el Dr. ALVAREZ SÁNCHEZ, J, del Laboratorio de Malacología del Museo de Ciencias Naturales de Madrid.

La observación de los moluscos recogidos fue realizada primeramente en bloques, sobre grupos de 40 a 50, colocándolos en pequeños cristalizadores con agua limpia y bajo un foco de luz directa para comprobar si alguno de ellos emitía cecarías. Cuando esto sucedía aislábamos todos los del grupo uno a uno en pequeños vasos de precipitado para descubrir así el molusco o los moluscos que emitían fases infestantes.

Hecho este primer ciclo de la observación, procedíamos luego con los moluscos que no emitían cercarías a un aplastamiento de su cuerpo entre placas triquinoscópicas, separando previamente la concha con pinzas, bisturí y agujas finas. En grupos de 8 a 10 se comprimían lo suficiente para ver por transparencia todos sus tejidos al microscopio o lupa con el fin de comprobar si había en alguno de ellos fases inmaduras.

El número de moluscos recogidos y observados entre las diversas zonas de la provincia ha superado los 3.000.

2.1.3. MANTENIMIENTO Y CULTIVO DE MOLUSCOS EN EL LABORATORIO.

El mantenimiento de los moluscos recogidos en el campo tenía un doble objeto; por una parte seguir observando la evolución de la posible infestación natural de los

moluscos, y por otra la recogida de muestras para el cultivo de generaciones que pudiesen servir con las máximas garantías para pruebas experimentales.

Los recipientes que hemos utilizado para el mantenimiento han sido:

Un pequeño acuario de forma cuadrangular con paredes de vidrio y juntas metálicas, con unas medidas de $60 \times 30 \times 34$ cm., y una capacidad de 60 litros. Cristalizadores de vidrio, redondos, de 1,5 y de 5 litros.

Recipientes de plástico cuadrados, de $23 \times 23 \times 8$, capaces para 3 litros. El número de moluscos que colocábamos en estos recipientes era variable, dependiendo del tamaño de los primeros. En los cristalizadores grandes se ponían a razón de 500 moluscos de menos de 2 mm. de diámetro, 250 de 2 a 4 mm. o 100 si eran de más de 5 mm. En los recipientes de plástico se mantenían a razón de 250 pequeños, 150 medianos o 75 de los mayores. En los cristalizadores menores albergamos unos 200 de los más pequeños, 100 de los medianos o 50 de los mayores. En el acuario llegaron a mantenerse bastante tiempo casi un millar de moluscos.

El agua empleada procedía de un pozo-manantial, con un pH de 7,2, dureza total de 79,5 grados franceses. Dureza cálcica 46 grados franceses; Ca 184 mg./l.; Co_3Ca , 460 mg./l.; Cloruros, 92,2 mg./l.; Sulfatos, 0,273 mg./l., Sodio, 87,5 mg./l. y Potasio 23,2 mg./l. Era renovada cada tres días y oxigenada diariamente por medio de una pequeña bomba que íbamos pasando por los recipientes que contenían los moluscos, permaneciendo en ellos un tiempo variable de acuerdo con la capacidad y el número de moluscos que alojaban.

La alimentación la constituían indistintamente hojas de lechuga tierna bañada en agua hirviendo y algas de una estirpe de *Oscillatoria formosa*, Bory.

El cultivo del alga se realizó en placas de Petri grandes y en cazoletas redondas de plástico, haciendo la siembra sobre la superficie de una capa de tierra de tres cms., previamente tamizada, esterilizada y amasada con agua destilada. Para favorecer el crecimiento las placas se situaban bajo una lámpara de vapor de mercurio de 400 W a una distancia de 80 cm.

Cuando estos alimentos eran agotados, se reponían de nuevo. En ocasiones junto con el alimento se le procuraba un fondo de barro y piedras que contribuía a absorber suciedades del agua y además ofrecía a los animales un ambiente similar al de las condiciones naturales.

Los moluscos fueron mantenidos en una habitación contigua al laboratorio, bien iluminada y ventilada, con calefacción por el día en invierno. Las temperaturas medias registradas han sido de 18° C en invierno, 20° C en primavera y otoño, y 23° C en verano, con máximas y mínimas que difieren muy poco de las medias.

Para el cultivo nos servimos inicialmente de un grupo de 500 moluscos recogidos en unos estanques de la localidad de Villar de la Yegua, donde habían sido localizadas infestaciones naturales y cuya composición química en sus aguas era: pH 7,3; Ca 24 mg./l.; Cloruros, 67,5 mg./l.; Sulfatos escasos y una dureza de 11,6 grados franceses.

Una vez normalizada su adaptación a las condiciones del laboratorio, comenzamos a recoger puestas de las paredes de los recipientes. Retiradas las puestas diarias cuidadosamente con un pincel, y tras un lavado con agua del grifo a suave presión, íbamos depositándolas en placas de Petri de 15 cms. de diámetro. Las placas tapadas se mantenían en estufa a 23-25° C, renovando diariamente el agua de pozo y observando a la lupa la vitalidad de los embriones para retirar las masas de huevos sin vida o las que no progresaban.

La eclosión ocurría hacia los 12-15 días de incubación. A partir de este momento separábamos todos los días los moluscos recién nacidos con un fino pincel y tras lavarlos se colocaban en placas similares a las utilizadas para las puestas. En estas placas los manteníamos 15 o 20 días, renovando el agua de pozo diariamente, dándole como alimento finas tiras de algas y eliminando los moluscos que iban muriendo.

Pasado este primer período se trasladaban a cristalizadores de 1,5 litros hasta un máximo de 600 por recipiente, prosiguiendo su mantenimiento de la forma que ya se ha indicado, disminuyendo el número de los albergados en cada recipiente a medida que iban creciendo y ordenando los grupos por edad, tamaño y época de cría.

Con este método se han conseguido 1.600 moluscos de primera generación, 600 de ellos nacidos en otoño y 1.000 en primavera y 1.300 de segunda generación nacidos en primavera y otoño.

2.1.4. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL DE MOLUSCOS.

2.1.4.1. Características de los lotes de moluscos.

En total se infestaron 550 moluscos, nacidos y criados en el laboratorio, distribuidos en 15 lotes con números de 5, 10, 20, 25, 50 y 100, cuyos tamaños oscilaban entre 2,5 y 9 mm., y edades comprendidas entre 2 y 6 meses. Todos ellos se agruparon en lotes homogéneos según estas características.

2.1.4.2. Fuente de huevos.

Como proveedor de huevos utilizamos un becerro de un año infestado naturalmente, procedente del foco de Villar de la Yegua.

Hemos utilizado también ratones y corderos infestados artificialmente por nosotros.

2.1.4.3. Observaciones sobre la vitalidad de los huevos.

Para ello hemos colocado masas de heces, simulando una defecación de un bovino en el medio natural. Controlando la temperatura y humedad del ambiente, hemos comprobado el número de huevos viables que se encontraban en una muestra que se iba tomando en días sucesivos al continuar expuestas las heces a las condiciones naturales.

2.1.4.4. Obtención, observación, aislamiento y recuento de miracidios.

Prevía mezcla y dilución de heces recientes, efectuábamos un primer tamizado por una malla de 320 micras, a través de la cual pasaban los huevos y retenía las partículas groseras de las heces. El filtrado se hacía pasar luego por otro tamiz de 60 micras de malla, en el cual quedaban los huevos junto con restos finos de las heces. Este contenido era lavado con agua a suave presión durante 5 minutos. Con una espátula se iban tomando después porciones de esta mezcla retenida y lavada, depositándolas en placas de Petri de 15 cms. de diámetro y 3 cms. de altura las cuales rellenábamos con agua del grifo a 25°C y las colocábamos bajo la luz directa de un foco corriente de mesa. Al cabo de 20 o 30 minutos podían verse a la lupa buen número de miracidios nadando por el líquido de las placas, mientras los restos de las heces habían sedimentado en el fondo.

El líquido sobrenadante era decantado y depositado en otras placas más pequeñas.

También hemos utilizado para aislar miracidios las técnicas de STANDEN (1951) y BROWNE, G. H. y THOMAS, I. J. (1953).

El recuento, lo hacíamos bajo la lupa, separando los miracidios uno a uno con una pipeta Pasteur a la que se adaptaba una pequeña pera de goma para succionar.

El número de miracidios destinado para cada molusco era 1, 5, 10, 15 y 50, según las características del lote.

2.1.4.5. Exposición a los miracidios.

En los lotes de tamaño superior a 7 mm., los moluscos eran colocados individualmente en pequeños vasos de precipitado en los cuales íbamos depositando los miracidios, agregando al final una pequeña cantidad de agua a 22-24° C hasta completar 2-3 c.c.

Para los lotes de tamaño inferior a 7 mm., se utilizó una placa de aglutinación («Perpex») con pocillos de 2 c.c., en cada uno de los cuales depositábamos un molusco con sus correspondientes miracidios, agregando también agua hasta llenar el pocillo.

Los tiempos de exposición o contacto han oscilado según los diferentes lotes desde 2 a 18 horas, observándose siempre en los primeros momentos el comportamiento de los miracidios frente a los moluscos.

2.1.4.6. Mantenimiento y observación de los moluscos infestados.

Fue realizado siguiendo la técnica general de mantenimiento de moluscos en el laboratorio. Una vez finalizado el período de exposición a los miracidios, se recogían los moluscos en un recipiente etiquetado con todos los datos referentes a la infestación.

La temperatura a que eran sometidos los lotes infestados fue para unos la del laboratorio, con las variaciones que en cada estación se mostraban (18° C de media en invierno, 20° C en primavera y 23° C en verano), y para otros se recurrió a estufa regulando a nuestra voluntad para cada lote a una temperatura determinada.

Los estudios en moluscos infestados han consistido en control de mortalidad, observación de cercarias y sacrificados en diversas fechas, y observaciones sobre la emisión de cercarias, separando aquellos moluscos que emitían cercarias y manteniéndolos aparte.

Transcurridos los 3,5 meses desde la infestación, dábamos por concluidas las observaciones de los lotes, sacrificando los moluscos que no habían emitido cercarias y comprobando en ellos la presencia o ausencia de fases evolutivas.

Para estudios sobre vitalidad y emisión de cercarias, procurábamos a los moluscos unas condiciones constantes a excepción de la variable que nos interesaba observar durante 3 ó 4 días consecutivos en que se iba repitiendo la prueba para anotar resultados medios. El material usado que hemos de reseñar para estas observaciones quedó reducido a lámparas corrientes de mesa y una estufa-refrigerador que se podía graduar desde —10 hasta 70° C en el punto deseado en cada caso.

2.1.5. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN RATONES

2.1.5.1. Características de los lotes de ratones.

Fueron infestados 112 ratones, 99 de una estirpe de ratón blanco suizo y 13 de un cruce del anterior con ratón gris de campo, 76 machos y 36 hembras, agrupados en lotes de 6, 10, 20 y 30 ratones por lote. La edad de todos ellos estaba comprendida entre 4 y 6 meses y el peso entre 27 y 32 g.

Se procuró la máxima homogeneidad entre los de cada lote, manteniéndose en cajas de plástico de 25 × 18 cm., con tapa de tela metálica capaces para 10 ratones. La alimentación fue a base de un pienso granulado preparado para cerditos por Gallina Blanca Purina, S. A. En ocasiones, intentamos dar un pienso preparado para conejos pero no lo consumieron. El agua se daba mediante un biberón de 25 ml., para cada jaula, a libre disposición. La cama estaba formada por serrín y era renovada semanalmente. Las hembras se mantenían separadas de los machos y no se permitió la reproducción. La habitación en que guardábamos los animales estaba bien iluminada y ventilada, con calefacción en invierno, conservando unas temperaturas durante todo el año que oscilaban entre 17 y 23° C según la estación.

2.1.5.2. Obtención y recuento de cercarias.

Conseguíamos las cercarias dejando los moluscos en un vaso con un volumen conocido de agua de pozo a 26° C, bajo una lámpara durante las horas de la mañana.

Retirados los moluscos, el número de cercarias obtenido se calculaba contando

a la lupa las presentes en 1 c.c. y multiplicando por el volumen previamente medido. Tomábamos después, el volumen adecuado de acuerdo con el número de cercarias que descábamos disponer para cada ratón, cifra que oscilaba entre 100 y 500 según los lotes.

2.1.5.3. Exposición de las cercarias.

Procedíamos primero a inmovilizar los ratones en unas cajas hechas con madera y tela metálica, de forma cuadrangular y medidas de 25 × 7 × 3 cms., divididas en 5 departamentos iguales en los que introducíamos cada ratón, haciendo salir su cola por un pequeño orificio al mismo tiempo que se fijaba con un esparadrapo para evitar los movimientos bruscos.

Las colas de los ratones eran sumergidas casi en su totalidad en tubos individuales que contenían las cercarias, estos tubos iban colocados en una gradilla situada al lado del soporte de la caja.

Los tiempos de contacto variaron según los lotes entre 30 y 60 minutos para unos y otros.

Transcurrido el período de exposición, efectuábamos un nuevo recuento en cada tubo para tener idea del número de cercarias que había penetrado.

2.1.5.4. Observación y estudio de los ratones infestados.

Se realizaron análisis coprológicos periódicos de cada ratón a los 45, 60, 75 y 90 días de la infestación por la técnica de FAUST y cols. (1939), modificada por PARFITT (1958), y también autopsias a diversas fechas, aislando los vermes si los había, y anotando detalles sobre número, sexo, medidas y localización de los mismos.

Los ratones que al cabo de 90 días permanecían negativos en la coprología, se sacrificaban y autopsiaban con todo detenimiento, concluyendo a esta fecha los resultados de cada lote.

2.1.6. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN CORDEROS.

Utilizamos 4 corderos de 6 meses, 26 Kgs. de peso y raza entrefina. Los animales procedían de un rebaño libre de infestación, no obstante, hicimos previos y repetidos análisis coprológicos para tener completa garantía sobre la ausencia de una posible infestación natural.

El número de cercarias fue de 1.000, 1.500, 1.700 y 4.000 respectivamente, administradas en dos días consecutivos durante 30 minutos para los tres primeros y 60 para el cuarto, cada vez.

El método consistió en sumergir una extremidad anterior hasta la región del menudillo previamente pelada y lavada, en un recipiente que contenía las cercarias.

Terminado el plazo de cada exposición los marcábamos con un número en la oreja para identificarlos.

Los análisis coprológicos se han llevado también a cabo según la técnica de FAUST y cols. (1939) modificada por PARFITT, (1958) a partir de los 30 días, repitiéndolos con una periodicidad de una semana y obteniendo las heces por extracción rectal.

2.1.7. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN ERIZO (*Erinaceus europaeus*).

Con objeto de comprobar la receptividad del erizo, (*Erinaceus europaeus*), señalada por BRUMPT, (loc. cit.), se realizaron infestaciones experimentales en estos animales.

Dispusimos de dos erizos y tras comprobar la ausencia de infestación natural en ellos, se pusieron en contacto con cercarias de *S. bovis*.

La dosis para uno de ellos fue de 200 cercarias durante 30 minutos, por vía percutánea (en un baño de agua) y 400 por vía intraperitoneal. El otro se infestó únicamente por vía percutánea con 500 cercarias, repitiendo la dosis al día siguiente, con tiempos de 90 minutos cada vez.

Los análisis coprológicos comenzaron a partir de los 25 días, semanalmente.

2.2. RESULTADOS Y DISCUSION

2.2.1. DISTRIBUCIÓN DEL PARÁSITO EN LA PROVINCIA.

Ha quedado demostrada la presencia de *S. bovis* en 30 municipios de la provincia (mapa n.º 2), que agrupamos por proximidad entre sí y similitud del terreno en 4 zonas bien definidas:

Zona de Vitigudino, con 9 focos.

Zona de Frades de la Sierra, con 9 focos.

Zona de Martiago, con 5 focos.

Zona de Villar de la Yegua, con 7 focos.

Las zonas de Villar de la Yegua y Martiago están incluidas en la cuenca del Agueda, y se localizan en el Suroeste de la provincia. La zona de Vitigudino está extendida por casi toda la cuenca del río Huebra, y se localiza también en la mitad Oeste de Salamanca. La zona de Frades de la Sierra comprende 9 municipios que distando muy poco del centro geográfico de la provincia se localizan hacia el Suroeste del mismo.

El área de *S. bovis* en toda la provincia, podría muy bien encuadrarse dentro de una zona más o menos trapezoidal, cuyos vértices serían: Valderodrigo, Castillo de dos Casas, Villasrubias, y Frades de la Sierra. Las temperaturas medias normales en el área del esquistosoma se reflejan en el cuadro n.º 1.

Hasta el momento no se ha advertido la presencia de *S. bovis* en otras comarcas

aparte de las zonas citadas, sin embargo no descartamos la posibilidad de hallar nuevos focos en esta provincia y en otras regiones españolas.

2.2.2. COPROLOGÍA Y AISLAMIENTO DE VERMES.

Los análisis coprológicos han sido el mejor medio para determinar las infestaciones naturales en los rumiantes. El método de FAUST modificado por PARFITT, (1958) nos ha demostrado que puede utilizarse con toda garantía para el diagnóstico coprológico de la esquistosomiasis. En este sentido nuestros resultados concuerdan en gran manera con las observaciones hechas por SIMÓN VICENTE, F. (loc. cit.), al respecto. En repetidas pruebas que hemos realizado comparando el número de miracidios que salen de una pequeña cantidad de heces, contando además los huevos no eclosionados y el número de huevos que se observan en igual cantidad de heces por el método citado, llegamos a la conclusión que se recogen aproximadamente un 50 % de los huevos, lo que hace de él un método de diagnóstico aceptable y suficiente para la práctica rutinaria.

Los resultados globales de la coprología se expresan en el cuadro n.º 2, y aun que a primera vista parezcan cifras tal vez demasiado reducidas para concederle valores estadísticos reales, encontramos en cambio suplida esta posible deficiencia numérica con unos muestreos realizados al azar y distribuidos por toda la geografía provincial (véase mapa n.º 1).

El aislamiento de vermes de material recogido en los mataderos, solamente se realizó en algunos animales procedentes casi todos de lugares y ganaderías en las que ya se conocía la presencia del parásito; todo ello con el fin de asegurar la identificación y conservar ejemplares.

2.2.2.1. Frecuencia y grado de infestación en los rumiantes de las diferentes zonas.

S. bovis aparece en un 16,8 % del total de los bovinos investigados, un 2 % en los ovinos, y 0 % para los caprinos, (véase cuadro n.º 2). Sin embargo estas cifras no ofrecen una idea muy significativa.

Resultados más precisos son los resumidos en el cuadro n.º 3 donde se muestran cifras referidas al área concreta de distribución del parásito.

En el ganado vacuno investigado en el área formada por los 30 focos evidenciados, aparece en una proporción media de un 36,2 % de los animales, cifra en torno a la cual oscilan las de las diferentes zonas, (32,9 % para la de Martiago; 37 % para la de V. de la Yegua; 36 % para la de Vitigudino y 45,8 % para la de Frades), si bien la zona de Frades de la Sierra nos muestra un % un poco más alto, aunque es posible que no sea tan real como en las otras al ser menor el número de animales investigados.

Atendiendo a la edad de los bovinos infestados, (véase cuadro n.º 4), hemos encontrado a *S. bovis* con más frecuencia en animales de edades superiores a un

año, y dentro de éstos, en los comprendidos entre 3 y 8 años. No quiere esto significar que los animales menores de un año sean en la realidad menos receptivos, sino que por razones de edad no han tenido tiempo u ocasión de infestarse, o al menos las oportunidades de contacto con la fase infestante del parásito han sido para ellos más escasas o tal vez nulas. Corroboramos además nuestra afirmación el hecho de haber conseguido un 100 % de infestaciones en corderos de 6 meses, aunque haya sido en condiciones experimentales.

En el ganado ovino, hemos encontrado *S. bovis* con una frecuencia muy pequeña. Solamente en 2 rebaños de las localidades de Gallegos de Argañán (Zona de V. de la Yegua) y Cubo de D. Sancho (Zona de Vititudio), con un % de animales infestados de 4,5 y 20 respectivamente, (véase cuadro n.º 3).

En el ganado caprino no hemos hallado *S. bovis* ni siquiera en fincas donde existen vacunos infestados. SIMÓN VICENTE, F. (loc. cit.), localizó en 1968 un importante foco por su frecuencia y grado de infestación en un rebaño de cabras de Pozos de Hinojo (Zona de Vititudio). En la actualidad dicho rebaño parece encontrarse libre de *S. bovis*, aunque el parásito subsiste aún en ganado vacuno de la finca.

El grado de infestación es bajo en casi la totalidad de los animales, (véase cuadro n.º 5) y solamente aquellos que presentan una tasa superior a los 18 hs/g, (cifra que no rebasa un 3 % de los infestados), acusan un empeoramiento de su estado general sin que lo podamos achacar a otras causas. Tal fue el caso del bovino citado en 2.1.4.2., que infestado naturalmente fue comenzado a observar al año de edad, en el mes de julio de 1970. Se hallaba entonces eliminando un promedio de 14-18 hs/g, cifra que fue decreciendo paulatinamente hasta septiembre de 1971 en que en repetidos análisis dejaron de observarse. Durante todo este tiempo, el animal permaneció estabulado con una alimentación conveniente hasta que fue sacrificado en diciembre de 1971.

En su sistema venoso mesentérico, porta y vísceras abdominales, fueron recogidos 52 parejas de *S. bovis*, de un tamaño algo superior al observado corrientemente en otros recogidos también de animales infestados naturalmente.

Todo esto parece indicar que, en ausencia de reinfestaciones, animales con un grado similar al de éste, se recuperan de sus síntomas iniciales, ganan en peso y mejoran su aspecto general. Ello se puede atribuir a la disminución paulatina de la puesta y tal vez a la desaparición de algunos de los vermes.

2.2.2.2. *Experiencias sobre la resistencia de los huevos en el medio ambiente natural.*

Las condiciones en que se llevaron a cabo estas experiencias fueron: días soleados de verano, con una temperatura media a nivel del suelo de 21º C, y extremas de 35º C para la máxima y 13º C para la mínima con una humedad relativa también das epidérmicas.

En repetidos y sucesivos recuentos sobre muestras tomadas de heces depositadas en el suelo y sometidas a las condiciones del ambiente apuntadas, hemos comprobado que al cabo de las 48 horas permanecen viables aproximadamente un 50 % de los huevos presentes en la defecación inicial y pasadas las 72 horas esta cifra se reduce a cero.

2.2.2.3. *Observaciones sobre el miracidio.*

El material fue obtenido de la forma que se indica en 2.1.4.4. Las dimensiones medias recogidas para esta forma embrionaria de *S. bovis* son $165 \times 35-45$ micras.

Los cilios tienen una longitud de 7-9 micras en la zona más ancha del cuerpo; en esta región, hay dos papilas laterales bien visibles, cortas y romas. No se ha intentado observar las papilas ciliadas descritas para este miracidio y para el de *S. haematobium*, CAPRON, (loc. cit.), ni otras formaciones superficiales como las placas ciliadas epidérmicas.

Hemos localizado los poros excretores de las glándulas lisógenas a los lados de la base del cono de penetración. El saco nutritivo, o intestino, se halla entre las glándulas cefálicas. En el mismo eje central, por detrás del saco nutritivo y de las glándulas, está situado el ganglio cefálico.

El sistema excretor se compone de cuatro células flamígeras, dos anteriores y dos posteriores a la mitad del cuerpo, unidas por canales flexuosos que desembocan en dos poros en la segunda mitad del cuerpo.

A temperatura de 24-26º C el miracidio comienza a salir del huevo hacia los 15-20 minutos. Su movilidad es mayor durante las cuatro primeras horas a esta misma temperatura. A partir de este momento disminuye, y a las 8-10 horas pierden su vitalidad la mayoría de ellos. Según nuestra experiencia, no manifiestan los miracidios libres atracción alguna hacia la luz, en contra de lo observado por LENGY (loc. cit.).

2.2.3. *HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS.*

Teniendo en cuenta las referencias bibliográficas sobre hospedadores intermedios naturales de esquistosomas de los grupos «mansoni» y «haematobium» dentro del que se incluye *S. bovis*, hemos encaminado la búsqueda hacia los moluscos de la Familia Planorbidae. Llegados a este punto conviene recordar que, de manera general, se admite que los esquistosomas de los grupos «haematobium» y «mansoni» evolucionan en moluscos de la Familia Planorbidae; pero el primero utiliza la Subfamilia Bulinae género Bulinus y el segundo la Subfamilia Planorbinae, género Biomphalaria (= Taphius, Australorbis y Tropicorbis) y afines. De hecho todas las citas de hospedadores intermediarios de la especie *S. bovis* en los países ribereños del Mediterráneo se refieren al Género Bulinus, (BRUMPT, 1930; Le Roux y Biocca,

1951; DEIANA, 1953; ANDERSON y GOBERT, 1953; LENGY, 1962; ARFAA, 1965). Otro tanto ocurre en África con el grupo «haematobium», BARRIE, A. D. (1959).

2.2.3.1. Infestación natural e identificación.

Las únicas especies de Planorbiidae halladas hasta el momento en la provincia de Salamanca han sido, *Planorbis (spiralina) rotundatus* y *Planorbarius metidjensis*, siendo solamente esta última la que apareció infestada en el medio natural por *S. bovis*, habiéndose registrado las infestaciones en los meses de septiembre y octubre.

No ha sido posible encontrar *Bulinus* sp., lo que también sucedió en las encuestas realizadas por SIMÓN VICENTE, (1964-69), pero esto no quiere decir que se desarte su existencia, ya que *Bulinus (B.) truncatus*, aparece en Portugal de Norte a Sur, (CRISTO, 1967; FRAGA y XAVIER, 1966; FRAGA, XAVIER, PEQUITO y SIMOES, 1969) y BOFFIL y HAAS, (1920-21) lo señalaron en Cataluña (España).

El problema de la diferenciación específica de los Planorbiidae que comúnmente son hospedadores intermediarios de esquistosomas, (*Bulinus* y *Biomphalaria*), es muy complicado, puesto que, hasta la fecha ni los estudios citológicos ni los bioquímicos han logrado resultados concluyentes, BERRIE y WRIGT (1966-69). No obstante, parece ser que por los métodos electroforéticos el estudio de las proteínas del huevo de los Planorbiidae, ha servido en algunos casos para realizar diferenciaciones intraspecíficas. También mediante técnicas de gel-difusión, MICHELSON, H. (1966), consiguió resultados aceptables, en su opinión, para establecer relaciones congénicas entre *Australorbis*, *Tropicorbis* y *Biomphalaria*.

A falta de más información, debemos atenernos para la clasificación de hospedadores de *S. bovis* en Salamanca a la identificación mencionada.

Según WRIGT, (loc. cit.), el Género *Planorbis* de la región paleártica es el grupo más íntimamente emparentado con *Biomphalaria* del que se distingue por pequeñas diferencias morfológicas en el conducto prostático.

Por otra parte, para FAUST y RUSSEL (1961), *Planorbarius metidjensis* es sinónimo de *Biomphalaria dufouirii*.

Es de gran interés analizar lo sucedido sobre la conducta excepcional de *P. metidjensis* de Portugal, respecto a su receptividad para *S. haematobium*. A esta especie se le asignó el papel de hospedador intermediario natural de dicho esquistosoma, supuestamente autóctono en el Sur de aquella nación (BETTENCOURT, y cols. 1922; FRANCA, 1923).

FRAGA y cols. (1948), lograron infestar el 80 % de un lote de 21 moluscos con la referida cepa de *S. haematobium*, y el mismo autor en 1954 consigue también positivaciones en *P. metidjensis* con otra del mismo esquistosoma procedente de la Guinea Portuguesa. Posteriormente, XAVIER y FRAGA (1965), no pudieron infestar *P. metidjensis* del Algarve (Portugal) con *S. haematobium* de Guinea Portuguesa. El mismo FRAGA y cols. (1969), atribuyen estos resultados a posibles cambios gené-

ticos de los moluscos, y consideran a la extinguida cepa de *S. haematobium* del Algarve (Portugal) como la única excepción de esquistosoma del complejo «haematobium» que evoluciona en *P. metidjensis*. Apoyado el autor en esta y en otras razones de índole ecológica y anatómica, propuso denominar a este esquistosoma, *S. haematobium europeus*.

Por otro lado el malacólogo MANDHAL-BARTH, (1967) citado por FRAGA y XAVIER (1969), cree que *P. metidjensis* debe ser retirado del grupo de vectores de *S. haematobium*, en vista de los cambios y falta de susceptibilidad mostradas por este molusco en las experiencias correspondientes.

Al aparecer ahora *P. metidjensis* de España como hospedador intermediario natural de *S. bovis*, se suscita otra vez la cuestión de que moluscos Planorbiinae, hospedadores corrientes del Grupo «mansoni», (según FRAGA y XAVIER, 1969, *P. metidjensis* de Marruecos fue infestado por SIMOES BARBOSA con *S. mansoni*), puedan ser capaces de actuar como hospedadores de esquistosomas del grupo «haematobium».

Desde otro punto de vista, ello podría dar lugar al planteamiento de nuevas consideraciones sobre diferentes problemas, relacionados por ejemplo con la especificidad filogenética trematodo-molusco y con diferencias intraespecíficas de ambos.

Los porcentajes de infestación de los moluscos recogidos han sido variables según las zonas, las épocas del año y el tipo de habitat.

Durante los meses de invierno, primavera, principios de verano y finales de otoño, no hemos recogido moluscos infestados naturalmente, repitiéndose los mismos resultados durante dos años consecutivos.

En los abrevaderos de la zona de Villar de la Yegua se han encontrado proporciones desde 0,8 a 1,4 % de moluscos infestados en observaciones sobre varios centenares y en una densidad de población entre los 200 a 400 por metro cuadrado de fondo.

En un pequeño arroyo de la misma zona apareció hasta un 19 % de infestados sobre una observación de 50 ejemplares y en una densidad de población muy escasa (5-6 moluscos por m²).

El tamaño de los moluscos infestados naturalmente, estuvo comprendido en todos los casos entre 6 y 8 mm.

2.2.3.2. Distribución y habitats de los Planorbiidos en Salamanca.

Planorbis (spiralina) rotundatus está localizada en una zona muy limitada del norte de la provincia en la cual no hemos encontrado *S. bovis* (Río Cañedo).

Planorbarius metidjensis se distribuye en un área a la que se superpone la de *S. bovis*, (véase mapa n.º 2) y hemos de hacer notar que en todos los focos donde aparece *S. bovis* existe *P. metidjensis*; en cambio no en todos los lugares donde habita *P. metidjensis* se da *S. bovis*.

Las temperaturas medias en su área de distribución pueden apreciarse en el cuadro n.º 1.

Los tipos de tierras en las zonas donde aparecen estos moluscos los constituyen: Tierras pardas meridionales sobre pizarras, (Zona de V. de la Yegua y parte de la de Frades de la Sierra); tierras pardas húmedas sobre pizarras asociadas a listoselos, (Zona de Martiágo y parte de la de Frades de la Sierra); tierras pardas meridionales sobre granitos, (Zona de Vitigudino).

Los moluscos han sido hallados en varios tipos de medios:

- A) Ríos pequeños, poco profundos, corriente moderada, abundantes remansos, fondo pedregoso, abundante vegetación acuática y aguas claras.
- B) Arroyos pequeños cuya corriente se interrumpe al llegar el verano, quedando tan sólo algunos remansos aislados. Suelen tener muy poca profundidad y un fondo también pedregoso, aguas muy claras y vegetación acuática.
- C) Arroyos pequeños con las mismas características que los anteriores pero que fluyen a ellos manantiales y el agua no desaparece en ninguna época.
- D) Abrevaderos artificiales de forma generalmente cuadrangular o alargada con paredes de cemento y escasa profundidad, a los cuales llega el agua procedente de un pozo o manantial próximos que por tener entrada y salida, el agua se está renovando constantemente. Aunque en su fondo suele haber abundante material orgánico, formado por tierra, heces, plantas acuáticas etc., el agua se mantiene transparente y tranquila.

La vegetación acuática de estos medios estaba constituida fundamentalmente por comunidades de la clase *Phragmitetea*, como se hace constar en el Mapa de Vegetación de la Provincia de Salamanca, BELLOT RODRÍGUEZ, F. (1966).

El pH del agua en todos estos medios oscila entre 6 y 7.5. De la composición físico-química de las aguas donde viven los moluscos *Biomphalaria* y *Bulinus* en África, BERRIE y AZEVEDO y cols, (locs, cit.), opinan recogiendo también las experiencias de otros autores, que no se puede obtener información que se correlacione con su distribución aunque los últimos recuerdan que se ha dado gran importancia a la concentración de Ca en las aguas. Esto parece coincidir con nuestras observaciones en la variada tipología de hábitats que hemos localizado en la provincia.

Los *Panorbis* suelen estar asociados con otras poblaciones de moluscos entre los que destacan con más frecuencia los géneros *Lymnaea*, *Ancylus* y *Physa*.

En cuanto a las fluctuaciones estacionales registradas a lo largo del año en los criaderos de *Planorbis*, debemos significar que en los cauces de corriente temporal desaparecen en los meses de verano, no volviendo a observarse en cantidades apreciables hasta la primavera del año siguiente.

Dinámica algo diferente siguen las poblaciones en lugares donde el agua fluye de forma constante.

En el caso de los ríos también se observa una disminución progresiva a partir de los meses de verano, pero la reducción de la población no es tan acusada y es po-

sible encontrar algunos moluscos en los meses de otoño, aunque tampoco se observan en la época invernal.

En los abrevaderos la marcha sigue un curso totalmente distinto a los demás hábitats. Aquí la influencia estacional se manifiesta en otro sentido. Nunca dejaron de aparecer moluscos, ni aún en los meses fríos del invierno, durante los cuales se localizan en los fondos de los pilones. El número más elevado de moluscos se alcanza en los meses más calurosos del verano y principios del otoño.

2.2.3.3. Mantenimiento y cultivo de moluscos en el laboratorio.

Al comienzo de nuestras experiencias, numerosos ensayos no nos permitieron mantener moluscos en el laboratorio más de tres meses, pues la mortalidad era extrema.

Moluscos procedentes de V. de la Yegua, recogidos en el mes de septiembre, logramos mantenerlos hasta nueve meses, durante los cuales tuvimos ocasión de obtener a partir de ellos nuevas generaciones una vez que se normalizó su adaptación al nuevo hábitat experimental.

Esta población inicial estuvo formada por 500 caracoles, 400 de los cuales de un tamaño comprendido entre 6-9 mm., y los otros 100 de 3-5 mm.

Durante los dos primeros meses se mantuvieron vivos un 80 %. Hacia el 5.º mes sobrevivía un 30 %. Al 8.º mes solamente quedaba un 6 % desapareciendo los últimos a los 9 meses.

En el otoño obtuvimos unos 700 moluscos de 1.ª generación, gran parte de los cuales fueron más tarde empleados para las pruebas de infestación experimental y el resto se conservó a lo largo de todo el año, observándose en ellos una supervivencia de un 90 % en el primer mes, (durante el cual la mortalidad se acusó más en los primeros diez días de vida), un 80 % al cabo de los dos meses y un 40 % a los cinco meses, quedándose en un 15 % aproximadamente al cabo de un año.

En primavera se consiguió una nueva cría, tanto de 1.ª como de 2.ª generación.

Los caracoles nacieron en una cantidad de 2.300 en los meses de mayo y junio y acusaron una mortalidad mayor que los nacidos en otoño, si bien en el primer mes sobrevivieron casi todos ellos. En el tercer mes solamente vivían la mitad y en el sexto mes se había reducido la supervivencia al 17 %.

XAVIER, AZEVEDO, et al, (1968), con *P. metidjensis*, procedentes del Algarve, (Portugal) y *Bulinus* de diferentes especies, han obtenido una supervivencia de un 41,6 % hacia el quinto mes.

Las condiciones de sostenimiento que imponían estos autores, se basaron en una alimentación exclusiva con *Oscillatoria*, y a una temperatura media de 23-30° C, que es sensiblemente superior a la utilizada por nosotros. Con este procedimiento, los investigadores portugueses manifiestan que consiguieron mejores resultados que con las técnicas de CLAUGHER, STANDEN y otros, con las cuales fue comparado.

Por su parte, PELLEGRINO y KATZ, (1968), mantuvieron *Biomphalaria glabrata*

a temperaturas más cercanas a las nuestras y bajo una alimentación exclusiva con lechuga. No obstante los acuarios artificiales empleados por estos autores contenían plantas acuáticas del tipo de *Valisneria*, *Elodea*, etc., sobre una capa de arena y tierra esterilizada. Este medio sirvió para el cultivo de caracoles en grado medio de crecimiento. Aseguran que con este sistema es suficiente para mantener los moluscos sin otro cuidado especial durante varios meses, si bien la microflora y microfauna en exceso, así como la materia orgánica procedente de heces y restos vegetales fue controlada por medio de *Daphnia* y *Tubifex*.

A la vista de estos resultados, parece que las diferentes especies y razas de moluscos pueden requerir condiciones particulares para su desarrollo óptimo, aunque en líneas generales se pone de manifiesto una cierta capacidad de adaptación para vivir dentro de márgenes relativamente amplios.

Por el procedimiento seguido para el cultivo hemos logrado una cifra de 3.000 nacimientos.

El período de puesta observado alcanza todos los meses del año. Las épocas para la cría han sido otoño y primavera, que es cuando la actividad reproductora de los caracoles se manifiesta con mayor intensidad.

Las eclosiones se produjeron por término medio entre los 12-15 días de incubación, y desde aquí hasta la madurez sexual transcurría un período muy variable para los moluscos de una misma edad.

Una cuarta parte de los *Planorbarius*, comenzaba a reproducirse entre los 50-60 días, siendo el período mínimo registrado de 40 días, y el resto lo iban consiguiendo paulatinamente hasta un plazo que puede fijarse en 90-100 días.

De aquí se deduce que el plazo de «huevo a huevo» es también variable, siendo el mínimo de 55-60 días y el máximo de 115 días.

Hemos obtenido moluscos de dos generaciones dentro de un mismo año, con lo que cubríamos nuestras necesidades de disponibilidad de caracoles, pero indudablemente las posibilidades pueden ser mucho mayores.

El ritmo de crecimiento observado por nosotros ha sido también muy variable, y en general mayor en las crías efectuadas en el otoño, donde se han alcanzado tamaños de 4-6 mm. en un mes y 7-8 mm. a los tres meses. En cambio en los lotes nacidos al final de la primavera el crecimiento se ha visto más retrasado y la mortalidad era más acusada. Moluscos nacidos en mayo alcanzaron 2-3 mm. a los dos meses y 7-9 mm. a los seis.

XAVIER, AZEVEDO y AVELINO, (1968), con *P. metidjensis* del Algarve (Portugal), cultivados con *Oscillatoria*, observan un período entre huevo y huevo de 64 días, pero no hacen mención de la proporción de caracoles que se desarrolla en este plazo.

El tamaño que alcanzan los moluscos alimentados solamente con *Oscillatoria* según estos autores es de 15 mm. a los 17 meses.

MARKOWSKI, S. (1968), cultivando diferentes especies de moluscos ingleses

obtiene para *Planorbarius corneus* (L.), que podría ser sinónimo de *P. metidjensis*, tamaños de 9-14 mm. y 12-16,5 mm. en un año, en acuarios a temperatura de 20 y 26° C respectivamente.

El tamaño máximo registrado por nosotros ha sido de 10 mm. al año de edad.

2.2.3.4. Fase larvarias intramolusco.

2.2.3.4.1. Esporocistos.

Nuestras observaciones se han realizado sobre esporocistos secundarios, suponiendo válidas las hipótesis de CAPRON y LENGY (locs. cit.) para los plazos de desarrollo y emigración. En los *Planorbarius* disecados se localizaron recubriendo intestinos y superficies de la glándula digestiva. Su forma es dactilar, y varían mucho en desarrollo longitudinal, (de 0,500 a 1,5 mm.), y menos en su anchura, (de 150 a 250 micras). Contienen desde masas celulares indiferenciadas de forma redondeada, hasta cercarias con su morfología completa, pero estas en escaso número dentro de cada esporocisto. Las paredes son muy finas y transparentes, hasta el punto de hacerse indistinguibles cuando se observa la masa visceral comprimida sobre el portaobjetos, extremo que también señalan CAPRON, A. (loc. cit.), para los esporocistos de *S. haematobium* y LENGY, (loc. cit.) para *S. bovis*.

2.2.3.4.2. Cercarias.

Tienen el cuerpo espinoso en toda su superficie, incluyendo la cola y sus ramas, menos en el extremo anterior, donde es posible descubrir de 6 a 8 papilas con un pequeño pelo o seda sensorial correspondiente a la desembocadura de las glándulas de penetración. Estas sedas de 10 a 15 micras según LENGY, se distribuyen en grupos a lo largo del cuerpo y son difíciles de localizar. Nosotros únicamente las hemos visto en el extremo anterior, ya citado, y no parecen coincidir exactamente con la localización señalada por LENGY en su figura n.º 7, (loc. cit.). Las dimensiones medias del cuerpo, tronco de la cola y ramas, coinciden con las dadas por diversos autores, BRUMPT, CARTA, DEIANA y LENGY, (locs. cit.), 210-250 × 60-75 micras para el cuerpo, 260-270 × 30 micras para el tronco caudal y 80 micras para las ramas. La ventosa ventral es de unas 35-40 micras. El número de células excretoras es de diez, distribuidas según la fórmula:

$$2 [(1 + 1) + (1 + 1) + 1] = 10$$

La emisión de cercarias se realiza en las condiciones señaladas en 2.1.5.2.

Su vitalidad está relacionada con la temperatura del agua. En las distintas observaciones efectuadas se ha visto que ofrecen un amplio margen de supervivencia.

En grupos de cercarias emitidas por los mismos moluscos y mantenidas a 6° C al cabo de 20 horas habían sufrido una mortalidad del 80 %. Cuando la tempera-

tura era de 15° C, ± 2 un 30 % aproximadamente permanecían vivas hasta las 31 horas. A 23° C la mitad de las cercarias seguían vivas a las 20 horas, pero con escasos movimientos y en el fondo de los recipientes (vasos de precipitado de 80 c.c.) utilizados para la prueba. Llegadas las 24 horas sólo quedaron vivas sobrenadando un 25 % y a las 32 horas no se observaron cercarias vivas. Si el agua tenía una temperatura de 40° C, sobrevivían solamente un 10 % y por un periodo de tiempo inferior a 2 horas.

De acuerdo con esto, podemos decir que entre 15° y 20° C está la temperatura óptima para una mayor duración de la vitalidad de las cercarias. A medida que asciende la temperatura se acorta la vida de la larva, si bien es verdad que hay una cierta proporción de ellas que es capaz de soportar durante algunas horas temperaturas cercanas a los 40° C.

Todo ello concuerda, en general, con lo observado por PORTER y BRUMPT, (locs. cit.), aunque el segundo autor parece que admite una supervivencia de 48 horas a 25° C para una parte de las cercarias, hecho que no podemos confirmar según nuestra experiencia. Por lo que se refiere a los datos de PORTER, diremos que a 40° C mueren la mayoría casi en el acto.

Las diferencias son mayores entre nuestros resultados y los de LENGY, (loc. cit.), puesto que este autor a 23° C observa cercarias vivas al cabo de 48 horas y a 12° C hasta 72 horas. Aparte de que ningún autor de los citados indica porcentajes de vitalidad a las temperaturas de prueba, nos parece que las diferencias halladas podrían atribuirse al tipo de agua utilizada.

Respecto a la influencia del pH del agua, la acción letal se experimenta con rapidez desde valores de 5 y superiores, en tanto que a 6,5-8 es una acidez que toleran bastante bien. En realidad esta es la que se ha registrado en las aguas donde se recogieron moluscos infestados espontáneamente.

Hemos observado en las cercarias un fototropismo positivo notable, así como una marcada tendencia a concentrarse en las capas más altas del líquido, tanto en pequeños recipientes de 80 c.c. como en cristalizadores de 3 litros.

Los movimientos que realizan son agitaciones de la cola en sentido lateral y con gran rapidez. Este impulso las hace trasladarse, tanto en sentido vertical como horizontal, haciéndolo de la última forma cuando se encuentran muy próximas a la superficie. En ocasiones a estos movimientos se suman otros más lentos, de rotación sobre el eje longitudinal de su cuerpo.

2.2.3.5. Infestación experimental de moluscos.

El procedimiento descrito en 2.1.4.4. para la concentración y aislamiento de miracidios, nos ha resultado ventajoso por lo que se refiere a número de ellos y rapidez de eclosión, con respecto a otros métodos utilizados comúnmente para estos fines.

Si comparamos este método con el procedimiento de STANDEN, (1951) citado por XAVIER (1967), veremos que la escasa profundidad de agua y la amplitud de la

zona expuesta a la luz, permiten tal vez que la temperatura del agua y la acción de la luz actúen con mayor rapidez para estimular la salida de los miracidios que si lo hicieran a través del mayor volumen de agua, mayor profundidad y menor superficie iluminada de que se dispone con el matraz utilizado por el método de STANDEN.

Los métodos de obtención de huevos y miracidios viables a partir de homogeización y digestión de tejidos de animales infestados, BROWNE y THOMAS, (1953); CHAIA, (1956) citado por XAVIER, (1967); BENEX, (1960); y PELLEGRINO, (1968), son más laboriosos y en nuestro caso estaban menos indicados, por disponer con más facilidad de una fuente abundante de huevos embrionados a partir de heces. Particularmente el de BROWNE y THOMAS, (locs. cit.), para *S. haematobium* y *S. mansoni*, efectuado por nosotros a partir de hígados de animales infestados experimentalmente con *S. bovis*, es un método adecuado y recomendable para aquellos casos en que no es posible la recogida en cantidad suficiente de heces recientes, como ocurre con los animales pequeños de laboratorio.

Efectivamente, la tripsinación no parece afectar a la viabilidad de los huevos, aunque se observa que en los procedentes de tejidos el porcentaje de inviábiles es mayor que en los que se obtienen de heces.

Hemos puesto especial interés en observar el comportamiento de los miracidios ante la presencia de los moluscos. Abundan las opiniones y existen pruebas sobre la existencia de estímulos químicos por parte de los caracoles para atraer al miracidio de diferentes especies de esquistosomas, COM. EXP. de la O. M. S. Inf. Técn. n.º 372, (1967); MCINIS (1965). LENGY, (loc. cit.), ha observado que el miracidio de *S. bovis* cuando se halla cerca del caracol, puede mostrar, bien una mayor excitación de sus movimientos de aproximación, o bien alejarse sin advertir su presencia. Parece también que los miracidios poseen una considerable capacidad para desplazarse en todos los sentidos en el medio acuoso.

En cambio, SUDDS, JR. RH., (1960), sostiene, que el contacto de miracidio y molusco es un fenómeno en el que el azar juega el papel principal.

Nosotros hemos visto miracidios tratando de penetrar en la concha del caracol o en restos de las heces incluídas en el agua de donde fueron aislados. En estos casos el miracidio tras unos intentos de penetración, se separa y vuelve a nadar libremente en todos los sentidos.

Las condiciones y resultados de las infestaciones experimentales de moluscos, se reflejan en el cuadro n.º 6.

Las pruebas se comenzaron a realizar con este molusco antes de haber registrado la infestación en el medio natural. Con ellas intentábamos demostrar que *P. meidjensis*, era molusco receptible en mayor o menor grado, y confirmar su papel como hospedador potencial al menos.

Los resultados los consideramos suficientes para apoyar nuestra hipótesis de-

mostrada por otro lado al hallar moluscos de esta especie infestados en el medio natural.

Esto puede servir de base para efectuar trabajos más detallados sobre la receptividad de este hospedador.

La ausencia de referencias a *P. metidjensis*, como hospedador intermedio de *S. bovis* en la bibliografía consultada, no nos permite establecer comparaciones que puedan valorar la significación de nuestros resultados. En el área mediterránea el hospedador citado hasta el momento para este esquistosoma era *Bulinus* spp.

A pesar de que los tiempos de contacto han variado de 2 a 8 horas, suponemos que este factor no debe influir en el porcentaje de positivos, ya que la vitalidad de los miracidios empieza a disminuir a partir de las cuatro horas primeras, y dentro de este plazo es cuando mayores posibilidades hay de infestación, lo cual concuerda con lo manifestado por FRAGA y XAVIER, (1969), acerca del período óptimo en el que se logra la penetración del miracidio en el molusco, en infestaciones experimentales con esquistosomas.

Los límites de temperatura a los que se han sometido los diferentes lotes de moluscos no parece que tengan efecto apreciable en la positividad de los mismos.

En el cuadro n.º 7 relativo a la supervivencia de los moluscos infestados se aprecian las pocas diferencias existentes entre la mortalidad de los testigos y la registrada en los infestados. La mortalidad en los infestados se acusa más intensamente en los primeros días que siguen a la infestación, y a partir de entonces el ritmo es similar al que se produjo en los testigos. No obstante como podemos ver en el cuadro citado, ocurrieron excepciones, en las que la mortalidad en los testigos fue ligeramente superior a la de los infestados. En estos resultados pueden haber influido las diferencias individuales, en cuanto a capacidad para soportar el manejo durante la infestación, el cambio de recipientes, y la resistencia natural.

Parece ser por lo observado, que en los moluscos que recibieron mayor número de miracidios, no aumentó significativamente la mortalidad en comparación con otros que recibieron menor cantidad de ellos. Para LENGY, (loc. cit.), la mortalidad de *B. truncatus* infestados con *S. bovis* es independiente de la dosis de miracidios, y se advierte que fue más alta a los 12-27 días siguientes a la infestación y en aquellos moluscos de edades extremas.

Hubo diferencias notables en cuanto al número de puestas, siempre inferior en los lotes infestados con relación a los grupos testigos, efecto también observado por otros autores, CHU, SABBACHIAN y MASSOUD, (1966) y AZEVEDO, (1964), en *Bulinus* sp con *S. haematobium*.

Los porcentajes de receptividad están basados únicamente en la observación de aquellos moluscos que sobrevivieron más de treinta días. En ello se tenía en cuenta la emisión de cercarias o la presencia de formas larvarias bien desarrolladas en los sacrificados o muertos. Aquellos moluscos que morían después de los treinta días de infestación, pero que el estado de conservación de su masa visceral impedía una

observación correcta son los que forman parte, junto con los muertos antes de los treinta días, de un grupo que descartamos para fines estadísticos de porcentajes de positividad. Por lo tanto las cifras podrían haber sido superiores en el caso de que en este grupo hubieran existido moluscos positivos no confirmados.

Es obvio que el aumento del número de miracidios presentes, puede aumentar las posibilidades de positividad en las infestaciones.

Hay un factor ya señalado por FRAGA y cols. (1954 y 1969), también observado por nosotros, que interviene en la positividad de los caracoles, y es el origen de los miracidios utilizados para la infestación, (véase cuadro n.º 6).

En nuestras experiencias con *S. bovis*, se aprecia una disminución en el porcentaje de *Planorbarius* positivos en los grupos que fueron infestados con miracidios procedentes de huevos obtenidos de heces de ratón, en comparación con los que fueron infestados con miracidios procedentes de heces bovinas u ovinas.

Los autores antes citados trabajaron con *P. metidjensis* de Portugal frente a miracidios de *S. haematobium* originales de heces humanas, (su hospedador adecuado) y de ratón, observando que los primeros eran capaces de infestar al molusco, mientras que fue imposible conseguirlo con los segundos.

Si aplicáramos a *P. metidjensis* de Salamanca el mismo criterio de valoración de la receptividad que siguen FRAGA y XAVIER, (loc. cit.), para el caso de *S. haematobium* ante *Australorbis*, *Bulinus* y *Planorbarius*, habría que considerar que nuestro molusco es hospedador receptivo a *S. bovis*, ya que con dosis de miracidios inferiores a ocho, se obtienen resultados positivos.

Su grado de receptividad, teniendo en cuenta la escala propuesta por FRAGA, (1964), se encontraría entre «Bueno» y «Muy buen vector».

2.2.3.5.1. Período de patencia.

El análisis del cuadro n.º 8 demuestra que el período de patencia se halla influido por la temperatura de mantenimiento. Los plazos máximo y mínimo de patencia, de 100 y 15 días respectivamente, están separados por 13º C de diferencia en las temperaturas medias.

En el mismo cuadro puede advertirse, cómo subidas graduales de 1-2º C de temperatura repercuten considerablemente en la disminución del período de patencia.

La influencia de la temperatura sobre el período de patencia en otras especies de esquistosomas con diferentes hospedadores intermedios se manifiesta de forma similar. Las bajas temperaturas retrasan la evolución de las fases intermedias y las altas las aceleran.

Dentro del grupo *haematobium*, las experiencias indican que *S. bovis* exhibe un período de patencia menor que *S. haematobium*, aunque éstas se refieren a *Bulinus* spp, BERRIE, (loc. cit.); CHU y MASSOUD, (loc. cit.).

LENGY, (loc. cit.) señala un período de patencia para *S. bovis* en *B. truncatus*

de 21 días a temperatura de 28° C. A esta misma temperatura el plazo mínimo obtenido por nosotros para *S. bovis* en *P. metidjensis* ha sido de 19 días.

Debemos hacer notar que el origen de los miracidios, bien sean de hospedador natural o experimental (ratón), no ha producido cambios ostensibles en el período de patencia, ni tampoco el número de los mismos en el sentido que parecen afirmar CHU y SABBAGHAN, (loc. cit.), para *S. haematobium* en *B. truncatus*.

Hemos procurado establecer unos límites en las temperaturas de mantenimiento de los moluscos infestados que guardaran alguna relación con las que se producen en el medio natural de la provincia de Salamanca durante las estaciones de verano y otoño (véase cuadro n.º 1), épocas probablemente más propicias para que tengan lugar las infestaciones.

2.2.3.5.2. Emisión de cercarias.

En la eliminación de cercarias podemos considerar dos tipos de factores, unos externos y otros dependientes del propio caracol.

La mayoría de los autores están de acuerdo en considerar la luz como el principal estímulo para la liberación de cercarias de esquistosomas de la especie humana, COM.EXP. de la O.M.S. Inf, tec. n.º 299, (1965); WEBER, (1965); BERRIE, (loc. cit.).

Con el fin de comprobar el efecto de este factor en *S. bovis*, y *P. metidjensis* hemos realizado las experiencias cuyas condiciones y resultados se recogen en el cuadro n.º 9.

En efecto, la intensidad de la luz ejerce una acción marcada en la emisión de cercarias, no obstante, en ausencia de ella también se produjo eliminación, aunque en un grado menor, lo que podría atribuirse también para *S. bovis* al ritmo interno aludido por alguno de los autores citados para *S. mansoni*, *S. haematobium* y *S. japonicum*. LENCY, (loc. cit.), coincide con nuestra opinión y dice que la luz, aunque favorece la emisión, no es un factor esencial para mantenerla.

El cambio de agua en los recipientes que albergaban los moluscos positivos, no parece en este caso influenciar en ningún sentido la eliminación de cercarias, (véase cuadro n.º 10).

Bajo las condiciones de las experiencias que se indican en la gráfica n.º 1, la emisión de cercarias se incrementa a partir de las 7 horas, alcanzando su máxima potencialidad entre las 9,30 y las 10 horas. Desde las 10 horas el ritmo de eliminación comienza a descender paulatinamente hasta las 19, en que se alcanza de nuevo un nivel mínimo similar al que existía a las 7 horas. Este ritmo se mantiene con escasas variaciones a lo largo de la noche.

Hay también un flujo diurno de este tipo en *S. mansoni* y *S. haematobium*, que puede variar según la situación geográfica que se considere y la época del año.

En Brasil, estos esquistosomas siguen el ciclo diario comprendido desde las 9 hasta las 15 horas, realizándose a partir de las 19 a un nivel más bajo. En Egipto

la emisión es abundante entre las 9,30 y las 18,30. Todas estas observaciones han sido hechas en el medio natural, COM.EXP. de la O.M.S., (loc. cit.).

Existe pues un ciclo diurno de emisión bien definido para *S. bovis*.

Si BRUMPT, (loc. cit.), en sus observaciones, al decir que la cercaria de *S. bovis* abandonaba el caracol hospedador, lo mismo de día que de noche, a temperatura de 25° C, quería dar a entender que lo hacía en la misma proporción numérica, sus resultados no concuerdan con los nuestros. Tampoco concuerdan los de LENCY, (loc. cit.), cuando dice que la periodicidad de emisión de *S. bovis* en *B. truncatus* no estuvo relacionada con las diferencias día-noche.

Las pruebas realizadas para averiguar el efecto de la temperatura del agua sobre la eliminación de cercarias en moluscos expuestos a la luz, demuestran como se puede apreciar en la gráfica n.º 2, que existen amplios límites de temperatura entre los cuales se verifica la expulsión de cercarias. La temperatura más favorable para ello está en torno a los 25-26° C, y viene a ser similar a la que requieren otros esquistosomas en sus diversos hospedadores, para llegar al máximo de eliminación.

El límite superior de temperatura para *S. bovis*, según nuestros resultados, parece más amplio que el que se cita para *S. mansoni*, por ejemplo, por BERRIE, (loc. cit.), que era de 35° C. En nuestro caso, entre 40 y 45° C perecieron los moluscos.

Por lo que se refiere a los factores propios del caracol, sin duda el tamaño es el más importante para favorecer la producción de cercarias. En general la edad y el tamaño, en condiciones normales de cría, siguen un desarrollo paralelo. En los casos en que esto no sucede, cuando existen caracoles infestados de la misma edad y con igual número de miracidios, los que han producido más cercarias han sido los que tenían mayor tamaño.

Existe una gran variabilidad en la duración de la vida de aquellos que están emitiendo cercarias. Hubo moluscos que a los pocos días de comenzar la expulsión murieron, sin que esto se pueda atribuir directamente a la infestación.

De 100 moluscos en fase de emisión de cercarias, se mantuvieron produciéndolas durante un mes un 62 %; al cabo de dos meses quedaba un 36 % y a los cinco meses se mantenía un 6 % que murió poco después. LENCY, (loc. cit.), cifra en un máximo de 73 días el período de emisión en *B. truncatus*.

El cese de producción de cercarias ocurrió en algunos ejemplares antes de su muerte, la cual acaeció algún tiempo después, comprobándose mediante su apertura la ausencia de ellas, dato observado también en *B. truncatus* por LENCY, (loc. cit.).

También los límites son muy amplios para el número de cercarias producidas por cada molusco. Con muchas probabilidades este número vendría determinado por la edad y el tamaño del caracol, condiciones de mantenimiento y alimentación durante el período de incubación y por su longevidad a partir del comienzo de las emisiones.

P. metidjensis en idénticas condiciones de infestación y con tamaños que oscilaban entre 5 y 8 mm. al comenzar la emisión, produjeron un promedio de 200 cer-

carias por día, cifra que se suele mantener durante el primer mes para luego ir descendiendo paulatinamente.

Estas cifras son inferiores a las observadas por BRUMPT, (loc. cit.), para *S. bovis* en *B. contortus* y por LENCY en *B. truncatus*.

El efecto de la dosis de miracidios sobre el número de cercarias producidas que señalan CHU y cols. (loc. cit.), para *S. haematobium* en *B. truncatus*, no lo hemos podido comprobar para *S. bovis* en *P. metidjensis* de una manera terminante. Moluscos infestados con un solo miracidio, han emitido aproximadamente el mismo número de cercarias que otros de igual tamaño que recibieron mayor dosis de miracidios.

2.2.4. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN RATONES.

Los resultados de las infestaciones experimentales de los diferentes lotes de ratones se expresan en el cuadro n.º 11.

Se eligió la vía percutánea, por inmersión de la cola, seguida por gran número de autores, PELLEGRINO y KATZ, (loc. cit.), por ser la vía natural de penetración del esquistosoma. También por diferentes autores han sido utilizadas con fines experimentales las vías, peroral, subcutánea e intraperitoneal, si bien todas ellas dan resultados menos satisfactorios, LENCY, (loc. cit.), y PELLEGRINO, (loc. cit.).

El sistema de fijación en compartimentos individuales, para trabajar con lotes pequeños, puede sustituir a otros que impliquen manejos previos para la anestesia de los animales, siendo éstos más indicados cuando es preciso emplear grupos numerosos de ratones.

El número de cercarias que corrientemente se ponen en contacto con cada ratón en infestaciones experimentales suele oscilar entre 100 y 500, cuando se efectúa con esquistosomas de hombre. En los trabajos de BRUMPT, (loc. cit.), no se menciona la cantidad utilizada, pero sí en los de LENCY, (loc. cit.), que lo hace con 500 cercarias.

Las dosis empleadas por nosotros, han oscilado entre 100 y 700 cercarias. Con ello se pretendía no sólo observar la receptividad de los ratones, sino también averiguar el margen de tolerancia de estos animales para *S. bovis*. En uno de los casos, la dosis de cercarias procedía de un solo molusco, infestado con un solo miracidio, para comprobar el desarrollo de los vermes en infestaciones unisexuales.

Los tiempos de exposición de 30 y 60 minutos, nos parecieron suficientes para que pudiera penetrar un buen número de cercarias, ya que según LENCY, (loc. cit.), la penetración es un proceso rápido, entre 5 y 10 minutos.

PELLEGRINO y KATZ, (loc. cit.), someten los ratones a una exposición de 45 minutos frente a cercarias de *S. mansoni*, y LENCY (loc. cit.), los mantiene en contacto con las cercarias de *S. bovis* una hora, repitiéndolo a las dos semanas.

En cuanto al período de prepatencia en los ratones, nuestros resultados coinciden con los de BRUMPT, (loc. cit.). En las heces no se encontraron huevos antes de los 60 días. Para LENCY, (loc. cit.), *S. bovis*, alcanza la madurez sexual y la producción

de huevos en ratón entre los 35 y 45 días. Este autor no nos aclara la fecha de aparición de huevos en heces, la maduración sexual debe ser, naturalmente, anterior a ella.

El período prepatente medio en las experiencias realizadas por nosotros, resulta ser de 70 días.

En las pruebas efectuadas por LENCY, (loc. cit.), casi todos los ratones expuestos a 500 cercarias se infestaron, lo que ha sucedido también en las afectuadas por nosotros con dosis iguales a éstas, y lo mismo con dosis inferiores. (véase cuadro n.º 11).

Distinguimos entre ratones positivos a la puesta y positivos a la infestación, porque se puede apreciar este hecho en la mayoría de los grupos infestados. Sucede que en algunos casos ratones que no ofrecieron huevos en las heces, al efectuar su autopsia se encontraron parejas maduras, con hembras grávidas y huevos desarrollados en útero y en el tejido hepático, hecho observado así mismo por LENCY, (loc. cit.), en infestaciones de ratas y cobayas con *S. bovis*.

Las autopsias de algunos ratones realizadas a los 13, 53, 60, 90 y 120 días, nos han permitido seguir en parte el desarrollo de *S. bovis* y apreciar datos sobre su maduración, tamaño y localización.

A los 13 días se aprecian lesiones en hígado, seguramente producidas por la llegada de las esquistosómulas, ya que LENCY ha observado esta llegada alrededor de los 7 días. A los 14 días este autor obtiene medidas de 421×187 micras.

A los 53 días de la infestación se han encontrado esquistosomas machos con dimensiones de 800 micras a 1 mm. y parejas maduras con dimensiones de 4,7 mm. para los machos y 5,5 mm. para las hembras.

Ratones de 60, 90 y 120 días de infestación, tenían esquistosomas hembras de 7,2 mm. y machos de 6 mm. apareados y con huevos en los úteros de un tamaño medio de 140×36 micras. Las dimensiones obtenidas por BRUMPT, (loc. cit.), para huevos uterinos eran de 160×40 micras. LENCY, a los 64 días de infestación registró tamaños de 12,5 mm. para los machos y 14 mm. para las hembras.

Ratones autopsiados después de los 9 meses de infestación, contenían parejas con unas dimensiones de 7 mm. para los machos y 8,6 mm. para las hembras. El número de huevos en los úteros a esta edad osciló entre 39 y 49 con unos tamaños de $147-184 \times 36, 8-46$ micras. LENCY, a los 6 meses observó machos de 16 mm. y hembras de 16 mm.

Es decir, que en general los resultados obtenidos por nosotros con respecto al desarrollo de *S. bovis* en ratón muestran, en cualquier momento de la infestación, tamaños notablemente inferiores a los registrados por LENCY, lo que tal vez pueda atribuirse a diferencias intraespecíficas entre su esquistosoma y el nuestro, o a diferencias raciales entre los ratones utilizados en cada caso. El número de vermes aislados en las diferentes autopsias estuvo en consonancia con la dosis infestante. Hubo ratones con 4 y 5 parejas y otros que alcanzaron cifras de 40 parejas. Aparte de las parejas acopladas, se vieron también casi siempre machos aislados. La relación ma-

chos/hembras, favorable a los primeros, ha sido también observada por BRUMPT y LENGY, (loc. cit.).

El lote de ratones infestados con 200 cercarias procedentes de un solo miracido, reveló en sus autopsias la existencia de machos únicamente, en número de 1 a 14. Estos vermes a los 75 días de la infestación mostraron unos tamaños de 4-5,6 mm. y una falta de desarrollo apreciable en sus órganos sexuales.

Nuestras observaciones en lo que se refiere a la localización de *S. bovis* en los ratones, concuerdan con las de LENGY, en cuanto al punto más frecuente que es la entrada de la vena porta en el hígado. Le siguen en frecuencia las venas mesentéricas y en un caso hemos encontrado tres vermes machos en pulmón. Esta última localización no ha sido encontrada por LENGY, que opina que la distribución en los ratones depende del grado de las infestaciones. Hemos de hacer notar que el caso anotado por nosotros pertenecía a un grupo infestado con igual dosis de cercarias que la empleada por este autor.

La mortalidad experimentada en los ratones como consecuencia de la infestación, fue moderada con dosis a partir de 400 cercarias, y muy escasa con dosis inferiores. Las lesiones macroscópicas observadas consistían en hepatitis difusa con granulomas, y en bastantes ocasiones esplenomegalia y enteritis hemorrágica. Al parecer dosis más pequeñas de cercarias son capaces de producir lesiones y mortalidad comparables y superiores a las observadas por nosotros. Así, LURIE y DE MEILLON, (1956), en un estudio comparativo de la patogeneidad de *S. bovis* con otros esquistosomas africanos, utiliza para los ratones 150 cercarias, si bien fueron aplicadas intraperitonealmente. Las lesiones histológicas producidas en este caso le permiten afirmar que *S. bovis* es más patógeno para el ratón que para el mono y el cobaya.

2.2.5. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN CORDEROS.

Solamente hemos utilizado la vía percutánea, que es la más normal y efectiva según las experiencias de LENGY, (loc. cit.), con *S. bovis*, y DOS SANTOS y cols., (1962), con *S. mansoni*. Ambos autores probaron a producir la infestación por vía oral, y LENGY obtuvo resultados positivos permitiendo beber a los animales líquido conteniendo un gran número de cercarias. A pesar de todo, este autor opina que el método percutáneo, mediante la inmersión de las pezuñas en agua con cercarias, da lugar a infestaciones más intensas que cuando se hace beber el líquido infestante, haciendo ver que el camino seguido por las cercarias en la vía peroral es muy probable que comience en la piel de las fauces, lo que en último término puede considerarse también como vía percutánea, o a lo más mucocutánea.

Nuestros resultados se expresan en el cuadro n.º 12. De ellos se deduce que a las dosis indicadas la positividad fue total.

El período prepatente se halla en torno a los 40 días. En el caso del cordero n.º 2, no se observaron huevos hasta los 120 días, esta excepción no la tenemos en

cuenta porque pensamos que podría atribuirse a algún fallo no controlado en la mecánica de la infestación o en la de la comprobación.

El cordero n.º 4 murió a los tres meses de la infestación, después de haber experimentado una diarrea incoercible y adelgazamiento progresivo desde el momento en que se hizo patente la parasitosis. El aspecto del animal puede apreciarse en las figuras 25 y 26 tomadas una semana antes de su muerte, que no pudo atribuirse a otra causa más que a dicha parasitosis.

Realizada la autopsia, se aislaron 1.500 parejas maduras a las que hay que añadir un número indeterminado de vermes mal desarrollados, situados en puntos diversos y poco accesibles de la red vascular de las vísceras abdominales.

El esquistosoma se hallaba en las venas de casi todos los calibres del aparato digestivo, hígado y bazo.

Especialmente en el intestino delgado y recto, eran muy visibles hemorragias puntiformes a lo largo de su trayecto.

El pulmón ofrecía un color ocre claro, con el lóbulo medio derecho hepaticizado, su aspecto daba la impresión de haber sido cocido.

Los tejidos, hepático, esplénico y renal, contenían hemorragias y nódulos superficiales con huevos del parásito.

La anemia era intensa y había exudados pericárdicos y peritoneales.

A pesar de la gran cantidad de parásitos presentes, su desarrollo fue normal y el tamaño medio observado en numerosas medidas fue de 15 mm. para los machos y 20 mm. para las hembras.

El cordero n.º 3 murió a los 8 meses del proceso, padeciendo al mismo tiempo una verminosis gastrointestinal bastante intensa. Se aislaron 250 parejas y las lesiones eran menos intensas que las del anterior.

Los dos corderos restantes continuaron viviendo después de un año y medio, con claros signos de esquistosomiasis.

En general, las lesiones coinciden con las observadas por SÁNCHEZ BOTIJA, (loc. cit.), HUSSEIN, F. M. (loc. cit.), HURTER, R. L. y cols., (1967), y SIMÓN VICENTE, F. (loc. cit.).

En Africa del Sur, el brote de esquistosomiasis descrito por HURTER, (loc. cit.), producido por *S. mattheei*, los casos más graves eran ocasionados por un número de vermes superior a las 900 parejas.

2.2.6. INFESTACIÓN EXPERIMENTAL EN ERIZOS.

Las infestaciones fueron positivas, pero en ninguno de los casos se pudo determinar el período prepatente, ya que los análisis coprológicos fueron siempre negativos.

Realizadas las autopsias a los 50 días, se encontraron vermes apareados maduros, y huevos en el tejido hepático.

Los animales no mostraron síntomas de enfermedad y el desarrollo alcanzado

por los escasos vermes aislados fue similar al alcanzado en el ratón. Los tamaños medios fueron de 6 mm. para los machos y 8 para las hembras.

Los resultados dados por BRUMPT, parece que se obtuvieron utilizando mayor número de cercarias, puesto que el animal murió a los 37 días con embolias de vermes en los vasos viscerales.

2.3. CONCLUSIONES

1. ^a—En 30 localidades de las zonas central y occidental de la provincia de Salamanca, se ha encontrado *Schistosoma bovis* parasitando a rumiantes domésticos, preferentemente ganado vacuno.

2. ^a—El 36 % de los efectivos vacunos de la zona contaminada eran portadores del trematodo, pero en su mayor parte (90 %), con carácter asintomático. Sólo las reses con tasas coprológicas de 18 h/g o superiores, mostraron deficiente estado general. Ovinos y caprinos presentaron porcentajes de infestación de 2 y 0 % respectivamente.

3. ^a—El único molusco naturalmente infestado con *Schistosoma bovis* en la zona estudiada, ha sido *Planorbarius metidjensis* (Forb.), cuyo habitat preferido son pequeños arroyos y abrevaderos artificiales con agua procedente de manantiales o pozos.

4. ^a—Es la primera vez que se comprueba el papel de *Planorbarius metidjensis* (Forb.) como hospedador intermediario de *Schistosoma bovis*, debiendo señalarse que se ha mostrado muy receptivo también en condiciones experimentales. Consecuentemente, debe añadirse este molusco a la lista de hospedadores intermediarios de *Schistosoma bovis* en la cuenca mediterránea.

5. ^a—Por consiguiente, se prueba con ello, que esquistosomas del grupo «haematobium» pueden evolucionar en moluscos de la subfamilia Planorbinae, y no sólo en los de la subfamilia Bulininae, que son los que se han venido citando insistentemente en la bibliografía como hospedadores usuales de dicho grupo. La única excepción a esta regla, era el caso de la cepa de *S. haematobium* de Portugal señalada primeramente en *P. metidjensis*, en infestación natural y artificial, aunque con posterioridad no pudo volver a confirmarse la receptividad de este molusco para *S. haematobium*. Este hecho, puede contribuir a la interpretación de diversos problemas de interés referentes a la biología de los esquistosomas.

6. ^a—En condiciones experimentales, el período de prepatencia en los moluscos infestados dependió fundamentalmente de la temperatura del agua, oscilando entre 15 y 100 días para variaciones termométricas comprendidas entre 17 y 30° C. Estos datos permiten admitir la posibilidad de que las infestaciones de los moluscos persistan a través del invierno. En la cepa de *Planorbarius metidjensis* mantenida en nuestro laboratorio se ha observado un ritmo diurno de eliminación de cercarias bien definido.

7. ^a—Teniendo en cuenta las temperaturas medias y extremas, en la zona infes-

tada, más los datos sobre la influencia térmica en el desarrollo y emisión de cercarias, obtenidos experimentalmente, se estima que la época de infestación natural de los rumiantes debe estar comprendida entre mayo y octubre, ambos meses inclusive, alcanzando máxima intensidad en los períodos más cálidos.

8. ^a—Los ratones blancos Swiss y Swiss X Gris de campo, infestados con 200-300 cercarias por vía percutánea caudal, han permitido mantener satisfactoriamente hasta el momento nuestra cepa de *Schistosoma bovis* en la primera generación. Quedando pendientes con resultados de nuevos pases. El período medio de prepatencia ha sido de 70 días, con independencia de la dosis infestante.

9. ^a—En corderos de 6 meses, el período medio de prepatencia fue de 40 días con dosis de 1.000 a 4.000 cercarias. Las infestaciones con 1.000 y 1.500 cercarias provocaron signos clínicos. Con 4.000 cercarias el proceso fue mortal al cabo de tres meses, con eliminaciones diarias de 100 h/g, por término medio.

2.4. RESUMEN

Tras una revisión bibliográfica sobre aquellos aspectos más importantes de la esquistosomiasis bovina, relacionados con nuestro estudio, se hace una investigación acerca de la distribución, frecuencia y grado de infestación de los rumiantes domésticos de la provincia de Salamanca que se encuentran parasitados por *Schistosoma bovis*.

También se estudian algunos factores epizootiológicos de la parasitosis en esta zona, y se comprueba el papel de *Planorbarius metidjensis* como hospedador intermediario de dicho esquistosoma, tanto en el medio natural como en condiciones experimentales. Según la información recogida, es la primera cita mundial que se hace de este molusco en relación con *Schistosoma bovis*.

Igualmente, se describen técnicas para el mantenimiento de *Planorbarius* en el laboratorio, y a la vez que se completa el ciclo evolutivo, se conserva la cepa de *Schistosoma bovis* de Salamanca mediante infestaciones experimentales en ratones y en corderos.

RESUME

On a fait une recherche sur la distribution géographique, fréquence et grade d'infestation des ruminants domestiques à la province de Salamanque (Espagne), que on a trouvé infectés par *Schistosoma bovis*. On fait aussi une révision bibliographique sur les aspects plus importants de la schistosomiase bovin, en relation avec notre étude.

On a recherché quelques facteurs epizootiologiques de la helminthose dans cette zone, et on a constaté le rôle de *Planorbarius metidjensis* comme hôte intermédiaire de cet esquistosomè tant dans le milieu naturel comme dans les conditions experi-

mentelles. D'après l'information recueillie, c'est le première rapport mondiale de ce mollusque comme hôte de *S. bovis*.

On a décrit des méthodes pour l'entretien de *P. metidjensis* dans le laboratoire, et au même temps que on a complété le cycle évolutif, on maintienne la souche de *S. bovis* de Salamanca en conditions expérimentelles chez les souris et chez l'agneaux.

SUMMARY

After a revision of the bibliography on several features of bovine schistosomiasis, a research work was carried out to determine incidence, distribution, and degree of infestation by *Schistosoma bovis* in domestic ruminants of the Salamanca province (Spain).

In that province, studies were made on epizootiological factors of that parasitosis testing the role of the snail *Planorbarius metidjensis* as an intermediate host of *S. bovis*, under natural and experimental conditions. As far as we know, this is the first record of *P. metidjensis* as a host for *S. bovis*.

Methods for maintaining *Planorbarius* in the laboratory are described. Also, the life cycle of this strain of *S. bovis* has been completed and maintained by experimental infestation in mice and lambs.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einen Übersicht der Literatur über den wichtigsten Anblicken der schistosomiasis die mit unserer Arbeit in Zusammenhang sind, man hat eine Untersuchung über der Hauswiederkäuer die mit *Schistosoma bovis* infiziert sind, in der Provinz Salamanca (Spanien) gemacht.

Man studiert einige epizootische Aspekte der Parasitose in dieser Gegend und man beweist die Rolle von *Planorbarius metidjensis* als intermediärer Wirt jener Schistosome entweder in der Natur oder mit experimentelles Vergehen. Nach der gesammelte Information es ist das erste Zitat der weltlichen Literatur, in denen dieses Weichtier in Zusammenhang mit *S. bovis* zusammengebracht ist.

Man beschreibt auch Technische Verfahren um *Planorbarius* im Laboratorium zu erhalten, und zusammen damit man lässt den Entwicklungszyklus beenden und man erhält den Salamanca schen Stamm von *S. bovis* durch experimentellen Infektion von Mäuse und Lämme.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento al Dr. D. FERNANDO SIMÓN VICENTE, no sólo por habernos proporcionado el tema y por su constante y abnegada labor de dirección y asesoramiento en este trabajo, sino también por las enseñanzas que en todos los órdenes hemos recibido de él.

Igualmente, al Prof. Dr. D. MIGUEL CORDERO DEL CAMPILLO, que nos ofreció toda clase de ayuda y facilidades, así como su valiosa cooperación en la revisión crítica del original.

Al Dr. D. ENRIQUE DE SANTIAGO Y REDEL, por su colaboración en la confección de fotografías y asesoramiento sobre el manejo y cuidados de los animales de experimentación.

También estamos reconocidos a la Dirección y personal técnico y auxiliar del Centro de Edafología y Biología Aplicada de Salamanca, que de una u otra forma han contribuido con su ayuda a la consecución de esta tesis.

3. BIBLIOGRAFIA

- ALVES, W. (1949).—The eggs of *Schistosoma bovis*, *S. matthei* and *S. haematobium*. *J. Helminth.* **23**, 3/4, 127-134.
- ANDERSON, Ch. et GOBERT, E. (1934).—Note sur la presence en Tunisie de *Schistosoma bovis*. Infection naturelle de *Bulinus contortus*. *Bull. Soc. Path. exot.* **27**, 9, 850-853.
- ARFAA, F. SABBACHIAN, H. & BUJAN, H. (1965).—Studies on *Schistosoma bovis* in Iran. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **59**, 6, 681-683.
- BELLÓT RODRÍGUEZ, F. (1966).—Mapa de la vegetación de Salamanca. *Publicaciones del I.O.A.T.O. Salamanca*.
- BENEX, J. (1960).—Méthode pratique de récolte d'oeufs de schistosomes par digestion enzymatique. *Bull. Soc. Path. exot.* **53**, 2, 309-314.
- BERRIE, A. D. (1969).—Factors affecting growth reproduction of freshwater Planorbiidae in East Africa. Malacologia. *Proc. Europ. Mal. Congr.* Vienna 1968. **9**, 1, 35-36.
- (1970).—Snail Problems in Africa Schistosomiasis. *Advances in Parasitology*. **8**, 43-96.
- BETTENCOURT, A., BORGES, I. y SEABRA, A. (1923).—Raport de la Mission de l'Institut Câmara Pestana pour l'étude de la bilharziose au Portugal. *J. Sc. Mat. Fis. e Nat.* **4**: 7-38. Lisboa.
- BIOLCA, E. (1960).—Osservazioni sulla morfologia e biologia del ceppo sardo di *Schistosoma bovis* e sulla dermatite umana de esso provocata. *Parassitologia*. **2**, 1/2, 47-54.
- BOFFIL, A. y HAAS, F. (1920-21).—Estudii sobre la malacología de les vals pirenaïques. *Trab. Mus. Cienc. Nat. Barcelona*.
- BORCHERT, A. (1964).—«Parasitología Veterinaria». 3.^a Ed. Acribia. Zaragoza.
- BROWNE, H. and THOMAS, J. (1953).—A Method for Pure, Viable Schistosome Eggs from Host Tissues. *J. Parasit.* **49**, 3, 371-374.
- BRUMPT, E. (1930).—Cycle évolutif complet de *Schistosoma bovis*. Infection naturelle en Corse et infection expérimentale de *Bulinus contortus*. *Annls Parasit.* **8**, 1, 17-50.
- (1936).—*Schistosoma bovis* et *Schistosoma mansoni* ne sont pas transmissibles *Planorbis* (*Indoplanorbis*) *exustus*. Observations biologiques concernant de planorbe (autofecundation, érosion de la coquille, élevage, etc.). *Annls Parasit.* **14**, 5, 464-471.
- CAPRON, A., DEBLOCK, S., BIGUET, J., CLAY, A. & VERNES, A. (1965).—Contribution à l'étude de la bilharziose à *Schistosoma haematobium*. *Bull. Wild. Hlth. Org.* **32**, 755-778.
- CARTA, A. (1947).—Contributo alla identificazione della bilharzia dei bovini e degli ovini in Sardegna. *Schistosoma bovis*—Sonsino, 1876). *Riv. Parasit.* **8**, 1, 37-44.
- e DEIANA, S. (1954).—Sulla biologia e morfologia della cercaria dello *Schistosoma bovis* causata di dermatite papulare dell'uomo. *Riv. Parasit.* **15**, 4, 315-322.
- CRISTO, M. (1967).—Considerações sobre la posição sistemática do *Bulinus* (*B*) *contortus* de Portugal. *Garcia de Horta*. **15**, 2: 159-166.
- CHU, K., MASSOUD, J. & SABBACHIAN, H. (1966).—Host-Parasite Relationship of *Bulinus truncatus* and *Schistosoma haematobium* in Iran. 4. Effect of Month of Infection on Cercarial Incubation Periods of *S. haematobium* and *S. bovis*. *Bull. Wild Hlth Org.* **34**, 135-140.
- SABBACHIAN, H. & MASSOUD, J. (1966).—Host-Parasite Relationship of *Bulinus truncatus* and *Schistosoma haematobium* in Iran. 2. Effect of Exposure Dosage of Miracidia on the Biology of the Snail Host and the Development of the Parasites. *Bull. Wild Hlth. Org.* **34**, 121-130.
- CHU, F. Y., MASSOUD, J., de ARFAA, F. (1968).—Distribution and ecology of *Bulinus truncatus* in Fhurestan, Iran. *Bull. Wild. Hlth. Org.* **39**, 607-637.

- DEIANA, S. (1953).—L'infestazione del *Bulinus contortus* de cercarie di *Schistosoma bovis*, (Sonsino, 1876) e del *Paramphistomum cervi*, (Shrank, 1790) in diverse stagioni dell'anno. *Bol. Soc. Ital. biol. sper.* **29**, 12, 1939-40.
- DESCHENS, R. (1969).—¿Quelles infestations par les schistosomes sont des zoonoses? *Helminth. Abstr.* 1970. **39**, part. 4, p. 476. n.º 4.483.
- DINNIK, A. and DINNIK, N. (1965).—The schistosomes of domestic ruminants in Eastern Africa. *Bull. epizoot. Dis. Afr.* **13**, 341-349.
- DOS SANTOS, L. De CAVIARCO, S. y SOARES, S. (1962).—Esquistosoma experimental no carneiro. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* **22**/23, 97-102.
- EUZEBY, J. (1958).—«Diagnostic Experimental des Helminthoses Animales». Vigot Frères. p. 282. París.
- EVELAND, L. K. Hsü, Li. S. and Hsü, H. F. (1969).—Cross-immunity of *Schistosoma japonicum*, *S. mansoni* and *S. bovis* in rhesus monkeys. *J. Parasit.* **55**, 2, 279-288.
- FAUST, C. E. RUSSELL, F. F. y LINGICOME, R. D. (1961).—«Parasitología Clínica de Craig y Faut». U.T.E.H.A. México.
- FIEBIGER, J. (1942).—«Los parásitos animales del hombre y de los animales domésticos». Ed. Vda. J. Pueyo. Madrid.
- FRAGA DE AZEVEDO, J. y cols. (1948).—O foco português de schistosomíase. *Anais. Inst. Med. Trop.*, **11**, 175-222.
- y cols. (1954).—Susceptibility of *P. metidjensis* to *S. haematobium* of Portuguese Guinea and to *S. mansoni* of Mozambique. *Anais Inst. Med. Trop. Lisboa*, **11**, 251-260.
- y XAVIER, M. L. (1966).—A new potential vector of *S. haematobium* in Portugal. *Rev. Ibér. Parasitol.*, **26** (1): 3-11.
- , PEQUITO, M. y SIMOES, M. (1969).—Contribution to the morphological and biological identification of the *Bulinus truncatus* group. *Malacologia*, **9** (1): 25-35.
- , PRATES, M. D. e SAMPAIO, T. D. (1954).—Sobre a morfologia do schistosoma parasita dos bovidos do sul do Save. *Anais Inst. Med. Trop.* **11**, 2, 241-249. Lisboa.
- , XAVIER, M. & MEDEIROS, L. (1959).—Contribuição para o estudo da *Biomphalaria pfeifferi* (Krs) e do *Bulinus* (*Ph*) *globoisus* (*Mor*) do Sul do Save (Mozambique).—Biometria da concha a sua relação com a maturação sexual. *Archs. port. Sci. biol.* **12**, extrait. Lisbonne.
- FRANCA, C. (1923).—Observations sur la bilharziose a *Schistosoma haematobium*. IV. Sur l'hôte invertebré du schistosoma au Portugal et considerations sur les Planorbidés. *J. Sc. Mat. Fis. e Nat. Lisboa*, **4**, 163-180.
- GARMEDIA, J. (1965).—Estudio climatológico de la provincia de Salamanca. *Publicaciones del I.O.A.T.O. I y II* Salamanca.
- GEAR, J. H. et al. (1966).—Susceptibility of rodents to schistosome infections. *Bull. Wild. Hlth. Org.* **35**, 2, 213-221.
- GRETTILLAT, S. (1962).—Recherches sur le cycle évolutif du schistosome des ruminants domestiques de l'Ouest-Africain (*Schistosoma curassoni*, Brumpt, 1931). *C. R. Acad. Sci.* **255**, 14, 1657-59.
- (1963).—Epidemiologie de certaines affections à Trematodes des animaux domestiques en Corse (Bilharziose bovine et Distomatose bovine et ovine). *Ann. Parasit. hum. comp.* **38**, 471-481.
- Hsü, S. et al. (1966).—Immunization against *Schistosoma haematobium* in Rhesus monkeys by administration of cercariae of *Schistosoma bovis*. *Helmint. Abstr.* 1967. **36**, part. 3, p. 333. n.º 2.046.
- And Hsü, H. F. (1969).—Immunization against schistosome infection in Rhesus monkeys with living worm by intraperitoneal infection. *Parasitology*, **59**, 601-611.
- (1969).—Sex of schistosome cercariae as a factor in the immunization of Rhesus monkeys. *Expl. Parasit.* **25**, 202-212.
- HURTER, R. and PORCIETER, D. (1967).—Schistosomiasis in small stock in the potgietersus veterinary area. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.* **38**, 4, 444-446.
- HUSSEIN, M. F. (1968).—Observations on the pathology of natural and experimental bovine schistosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **62**, 1, 9.
- Mc INIS, A. J. (1965).—Transmission of Bilharziasis. Responses of *S. mansoni* miracidia to chemical attractants. *J. Parasitology*, **51**, 731-746.
- INTERNATIONAL REGISTER OF LIVING HELMINTH SPECIES AND STRAINS, O. M. S. (1966).—*Parasitic Diseases*. Geneva, Switzerland.
- KINOTI, G. (1964).—A note on the susceptibility of some gastropod molluscs to *Schistosoma bovis* and *S. mattheei*. *Helminth. Abstr.* 1965. **34**, part. 4, p. 349, n.º 2.485.
- KISNER, C. D. STOFFBERG, N. & DE MEILLON, B. (1953).—Human infection with *Bilharzia bovis*. *Jl. A. Afr. med.* **27**, 18, 357-358.
- LAPAGE, G. (1959).—«Möning's Veterinary Helminthology and Entomology». Bailliere, Tindall and Cox. London.
- LARIVIERE, M. BUTTNER, A. & PICOT, H. (1969).—Données épidémiologiques sur le complexe *Schistosoma ahenmatobium* en Afrique Sud-Saharienne. *Helminth. Abstr.* 1970. **39**, part. 4, p. 478, n.º 4.497.
- LE ROUX, P. L. e BLOCCA, E. (1951).—*Bulinus contortus* ospite intermedio dello *Schistosoma bovis* in Sardegna. *Atti. Acad. Lincei*, **11**, 400-402.
- LENCY, J. (1962).—Studies on *Schistosoma bovis*, (Sonsino, 1876), in Israel. 1. Larval stages from eggs to cercaria. *Bull. Res. Counc. Israel*, **10**, 1-36.
- (1962).—Studies on *Schistosoma bovis* (Sonsino, 1876), in Israel. 2. The intra-mammary phase of the life cycle. *Bull. Res. Counc. Israel*, **10E**, 73-96.
- LURIE, H. I. and DE MEILLON, B. (1956).—Experimental Bilharziasis in Laboratory Animals. 3.A comparison of the pathogenicity of *S. bovis*, south African and Egyptian Strain of *S. mansoni* and *S. haematobium*. *Jl. S. Afr. med.* **30**, 4, 79-82.
- MARKOWSKI, S. (1968).—Cooling ponds and heated industrial waters as potential environments of schistosomiasis in Britain. *J. Helminth.* **42**, 81-116.
- MC MAHON, J. E. (1969).—*Schistosoma bovis*, eggs in human faeces. *Helminth. Abstr.* 1970. **39**, part. 2, p. 151, n.º 1.298.
- MICHELSON, H. F. (1966).—Specificity of hemolymph antigens in taxonomic discrimination of medically important snails. *J. Parasit.* **52**, 3, 466-472.
- NELSON, G. S. AMIN, M. A. et al. (1968).—Studies on heterologous immunity in schistosomiasis. *Bull. Wild. Hlth Org.* **38**, 1, 9-17.
- NEVEU-LEMAIRE. (1942).—«Précis de Parasitologie Veterinaire» 10.^a E. Vigot. Frères. Paris.
- O. M. S. (1965).—Comité O. M. S. d'experts de la Bilharziose. Ser. Rapp. techn. n.º 299, Troisième rapport. Genève.
- O. M. S. (1967).—Epidemiologia y profilaxis de las esquistosomiasis. Ser. Inf. téc. n.º 372. Ginebra.
- PARFITT, W. R. (1958).—A technique for enumeration of helminth eggs and protozoan cyst in faeces from farm animals in Britain. *Lab. Pract.* p. 353.
- PELLEGRINO, J. and KATZ, N. (1968).—Experimental Chemotherapy of Schistosomiasis mansoni. *Advances in Parasitology*, **6**, 233-290.
- PITCHFORD, R. (1965).—Differences in the morphology and certain biological characteristics of some African and Middle Eastern schistosomes, Genus *Schistosoma*, with terminal-spined eggs. *Bull. Wild Hlth Org.* **32**, 105-120.
- PORTER, A. (1938).—«The Larval Trematoda found in certain South African mollusca». Published by Publications of The South African Inst. Med. R. **8**, P. O. Box 1038. Johannesburg.
- SAUDUM, E. M. and BLOCCA, E. (1962).—Intradermal and fluorescent antibody tests on human exposed to *Schistosoma bovis* cercaria from Sardinia. *Bull. Wild Hlth Org.* **27**, 810-814.
- SÁNCHEZ BOTIJA, R. (1954).—Sobre la presencia de la schistosomiasis ovina en España. *Revta. Patron. Biol. anim.* **1**, 1, 31-36.
- SCHWETZ, J. (1951).—A comparative morphological and biological study of *Schistosoma haematobium*, *S. bovis*, *S. intercalatum* Fisher, 1934, *S. mansoni* and *S. rodhaini*, Brumpt, 1931, *Ann. Trop. med. Parasit.* **45**, 2, 92-98.
- SIMÓN VICENTE, F. (1969).—Esquistosomiasis en el ganado de algunas provincias del Oeste de España. *S. C. Bol. Inf. Col. Vet. de España*, **187**, 41-52.
- SMITHERS, S. R. and TERRY, R. J. (1969).—The Immunology of Schistosomiasis. *Advances in Parasitology*, **7**, 41-93.
- SOBRERO, R. (1960).—Animali domestici ospiti naturali di *Schistosoma bovis* in Somalia. *Riv. Parasit.* **21**, 2, 125-130.
- SUDDS, Jr. RH. (1960).—Observations of Schistosome Miracidial Behaviour in the Present of Normal and Abnormal Snail Host and Subsequent Tissue Studies of these Host. *J. Elis. Mitchell Sci. Soc.* **76**, 1, 121-133.
- TAYLOR, G. (1970).—Hybridisation experiments on five species of african schistosomes. *J. Helminth.* **44**, 3/4, 253-314.
- WARREN, K. S. and NEWELL, V. A. (1967).—Schistosomiasis. A bibliography of the world's literature from 1852 to 1962. **1 y 2**. The Press of western Reserve University. Cleveland. Ohio.
- WEBBER, G. (1965).—Transmission of Bilharziasis. 1. Some Essential Aspects of Snail Population Dynamics and Their Study. *Bull. Wild Hlth Org.* **33**, 147-153.
- WHITE, G. (1965).—Transmission of Bilharziasis. 2. Production of cercariae. *Bull. Wild Hlth Org.* **33**, 155-162.

WRIGHT, C. A. (1966).—Relationships between Schistosomes and their Molluscan Hosts in Africa. *J. Helminth.* **50**, 3/4, 403-412.

XAVIER, M. e F. de AZEVEDO, J. (1964).—Contribution á l'étude de la *Biomphalaria pfeifferi* (Krs) du Sul do Save (Moçambique). Garcia de Orta, **12**, 3, 389-396. Lisboa.

— And F. AZEVEDO, J. (1965).—Susceptibility of *Planorbarius metidjensis* (Forbes) from the south of Portugal (Algarve) and *Bulinus (Ph) africanus* from Portuguese Guinea to *Schistosoma haematobium* from the same overseas province. *Anais Inst. Med. Trop.* **22**, 1-4, 57-63. Lisboa.

— (1967).—«Lecciones del curso de malacologia». Granada.

— F. de AZEVEDO, J. y AVELINO, I. (1968).—Importance d'*Oscillatoria Formosa Bory*, dans la culture au laboratoire des mollusques vecteurs du *Schistosoma haematobium*. *Bull. Soc. Path. exot.* **61**, 1, 52-66.

YAMAGUTI, S. (1958).—«Systema Helminthum». 1, part 1. *Interscience Publishers*. New-York London.

CUADRO N.º 1

Temperaturas medias normales en el área de *S. bovis* y *P. metidjensis* en Salamanca

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Zona de Vitigudino	4	5,5	8,5	10,8	14	18,5	21	20,9	18	13	7,8	4,8
Zona de Martiago	3,7	5,3	8,4	10,9	14,2	19	22	21,4	18,4	13,1	7,6	4,5
Zona de V. de la Yegua	6	7,7	11,1	13,2	17,3	22,5	25,8	25,1	21,8	16,1	10,2	6,8
Zona de Frades de la S.	3,8	5,2	8,7	11,1	13,8	18,4	21,7	21,2	18	13,5	8	4,9

NOTA.—Estas temperaturas están tomadas de las estaciones meteorológicas de : VILLAR-MUERTO, para la zona de Vitigudino; FUENTEGUINALDO, para la zona de Martiago; BANOBAZ, para la zona de Villar de la Yegua y ROBLIZA DE COIOS, para la zona de Frades de la Sierra.

CUADRO N.º 2
Exámenes coprológicos y resultados globales de los mismos

	Bovinos	Ovinos	Caprinos
N.º total de análisis efectuados	451	288	197
N.º de análisis en los focos	207	122	197
N.º de análisis fuera de los focos	244	166	0
N.º total de análisis positivos	75 (16,8 %)	6 (2 %)	0 (0 %)

CUADRO N.º 3
Frecuencia de *S. bovis* en las diferentes zonas de su área

	Bovinos		Ovinos		Caprinos		
	Investigados	%	Investigados	%	Investigados	%	
Martiago	82	27	32,9	40	0	70	0
V. de la Yegua	54	20	37	42	2	4,5	7
Vitigudino	47	17	36	20	4	20	60
Frades de la S.	24	11	45,8	20	0	60	0

NOTA.—Los ovinos positivos de las zonas de V. de la Yegua y Vitigudino, proceden de un solo foco de cada zona, (Gallegos de Argañan y Cubo de D. Sancho respectivamente).

CUADRO N.º 4

Distribución de la frecuencia de <i>S. bovis</i> según la edad en ganado vacuno de su área			
	Investigados	Positivos	%
Animales viejos (más de 10 años)	29	10	34.4
Animales adultos (entre 3 y 8 años)	102	43	43
Animales jóvenes (entre 1 y 2 años)	20	2	10
Total de animales.....	207	75	36.2

CUADRO N.º 5
Grado de infestación por *S. bovis* en el ganado vacuno

Número total de animales infestados: 75		
N.º de huevos/ gr.	N.º de animales	%
1- 2	13	17.3
2- 4	38	50
4- 8	17	22.6
8-12	4	5.3
12-18	3	4

CUADRO N.º 6
Infestación experimental de *P. metidjensis* con miracidios de *S. bovis*

Temperatura de mantenimiento											
(°C)											
Media											
Máxima											
Mínima											
Número de positivos											
Número de negativos											
Moluscos descartados											
(1)											
% de positivos											
10	9-10	22-IX-70	15	8 h.	22	23	18	1	3	6	25
20	7-9	24-IX-70	10	8 h.	22	23	21	5	13	2	33,3
19	5-7	15-X-70	10	8 h.	22	26	18	7	0	12	100
5	5-7	28-X-70	50	8 h.	22	26	18	3	0	2	100
24	9-10	10-XI-70	10	7 h.	22	26	18	11	4	5	73
25	6-8	12-I-71	10	8 h.	22	26	18	10	9	5	52,5
50	7-9	25-II-71	5	8 h.	18	20	16	22	28	1	83,3
50	7-8	16-III-71	5	8 h.	17	20	14	11	28	0	44
50	6-7	14-IV-71	3	6 h.	17	20	14	7	33	10	17,5
25	6-7	14-IV-71	1	8 h.	17,5	20	15	1	20	4	5
40	4-5	15-VII-71	4	2 h.	23	26	21	5	38	7	11,5
100	2-3	27-VII-71	2	3 h.	23	26	20	15	72	13	17,2
50	6-8	15-XI-71	9	4 h.	28	27	21	31	12	7	72
100	6-7	19-IV-72	10	4 h.	30	30	30	69	23	8	75
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											
»											

CUADRO N.º 7
Supervivencia de los moluscos infestados con miracidios de *S. bovis*

Temperaturas de mantenimiento				N.º de supervivientes a los 100 días			
Infestados	Testigos	miracidios		infestados	%	Testigos	%
10	10	10	22 °C	4	40	5	50
20	20	10	22 °C	6	30	9	45
19	20	10	22 °C	2	10,5	10	50
5.	5	50	22 °C	3	60	2	40
20	20	10	22 °C	15	75	12	60
24	20	Indef.	22 °C	11	45,8	11	52
25	25	10	22 °C	20	80	13	52
50	50	5	18 °C	22	45	22	45
50	50	5	17 °C	27	54	30	60
50	50	5	17 °C	36	72	35	70
50	50	3	17 °C	31	62	35	70
25	25	1	17,5°C	11	44	15	60
50	50	5	23 °C	36	72	30	70
40	40	4	23 °C	12	30	10	25
100	100	2	23 °C	75	75	77	77
50	25	9	28 °C	40	83	19	76
Total	688	560		350	57,4	335	59

CUADRO N.º 8
Influencia de la temperatura en el período de patencia

Temperaturas de mantenimiento. (°C)			Emisión de cercarias		
Mínima	Media	Máxima	N.º de moluscos	P. de Patencia (días)	
14-15	17	20	17	80- 85	
16	18	20	10	90-100	
			11	70- 75	
18	22	26	10	90-100	
			12	65- 75	
21	23	25	43	45- 55	
27	28	29	22	35- 45	
			7	19- 20	
			21	22- 25	
			3	40- 45	
29	30	31	26	25- 27	
			10	35- 40	
			23	17- 17	

NOTA.—En este cuadro no se tienen en consideración aquellos moluscos que aún siendo positivos, no llegaron a emitir cercarias por haber sido sacrificados.

CUADRO N.º 9

Influencia de la renovación del agua sobre la emisión de cercarias de *S. bovis*

Condiciones de los experimentos: Un grupo de seis moluscos; Temperatura del agua 25-26°C; Hora de las pruebas, 10 de la mañana; duración, 2 horas diarias durante tres días consecutivos.

Día	con luz directa (60 W)		Con luz indirecta		En oscuridad
	1.º	2.º	2.400	700	300
2.º			2.200	400	350
3.º			2.150	450	450

CUADRO N.º 10
Influencia de la renovación del agua sobre la emisión de cercarias de *S. bovis*

Condiciones del experimento: Un grupo de cinco moluscos; Temperatura del agua, 23-24°C; Hora de las pruebas, 9 de la mañana; Duración, 1 hora diaria durante 3 días.

Número de cercarias emitidas

Día	Con agua renovada recientemente	Con agua sin renovar desde 24 horas
1.º	360	300
2.º	280	400
3.º	250	300

CUADRO N.º 11
Infestación experimental de ratones con cercarias de *S. bovis*

Número Lote	Número de ratones	Fecha de infestación	Número de cercarias (por ratón)	Tiempo de exposición	Período prepatente (días)	Positivos a la puesta (%)	Positivos a la infestación (%)
I	6	7-X-70	350	1/2 h.	66	33	75
II	8	2-XII-70	350	1/2 h.	71	75	87,5
III	6	10-XII-70	500	1 h.	76	50	100
IV	7	15-XII-70	500	1 h.	60	100	100
V	10	3-III-71	700	1 h.	72	60	70
VI	20	9-III-71	500	1 h.	67	80	85
VII	20	29-III-71	400	1/2 h.	75	40	80
VIII	5	15-VII-71	200 (1)	1 h.	—	0	100
IX	30	20-VII-71	100	1/2 h.	79	20	100

(1) Cercarias procedentes de un solo molusco que se había infestado con un solo miracidio.

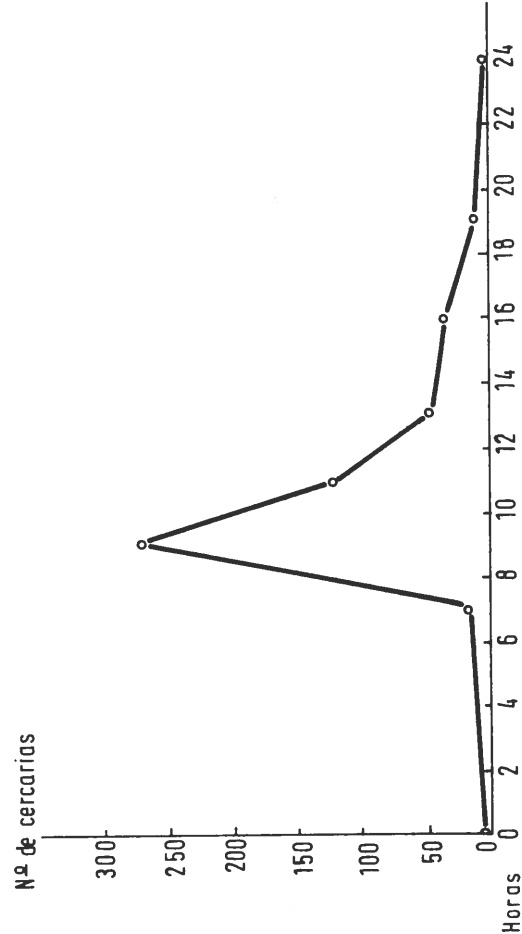
CUADRO N.º 12
Infestación experimental de corderos con *S. bovis*

Cordero	Fechas de infestación	Número de cercarias	Tiempo de contacto	Vía y técnica	Período prepatente (días)	N.º de huevos/ gr. a los días...			
						40	50	60	90
1	4-VI-71 8-VI-71	1.500 200	1/2 h.	percut. por inm. de pezu	40	2	3	4	4
2	15-VI-71	1.500	1/2 h.	»	120	0	0	0	3 (1)
3	7-VI-71	500	1/2 h.	»	44	0	3	5	6
	14-VI-71	500	1/2 h.	»	—	0	3	5	6
4	23-IX-71	2.000	1 h.	»	39	6	30	55	100
	24-IX-71	2.000	1 h.	»	—	—	—	—	—

(1) Aparecieron 3 hs./gr. por primera vez a los 120 días.

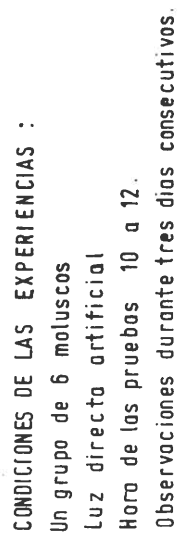
Gráfica N.º 1

INFLUENCIA DE LAS DIFERENTES HORAS DEL DÍA Y DE LA NOCHE EN LA EMISIÓN DE CERCARIAS DE *S. bovis*



CONDICIONES DE LAS EXPERIENCIAS :
Un grupo de 5 moluscos
Temperatura del agua 23-25°C.
Observaciones durante tres días consecutivos
Luz natural
Epoca del año, Septiembre

EFEECTO DE LA TEMPERATURA DEL AGUA EN LA
EMISION DE CERCARIAS DE S. bovis



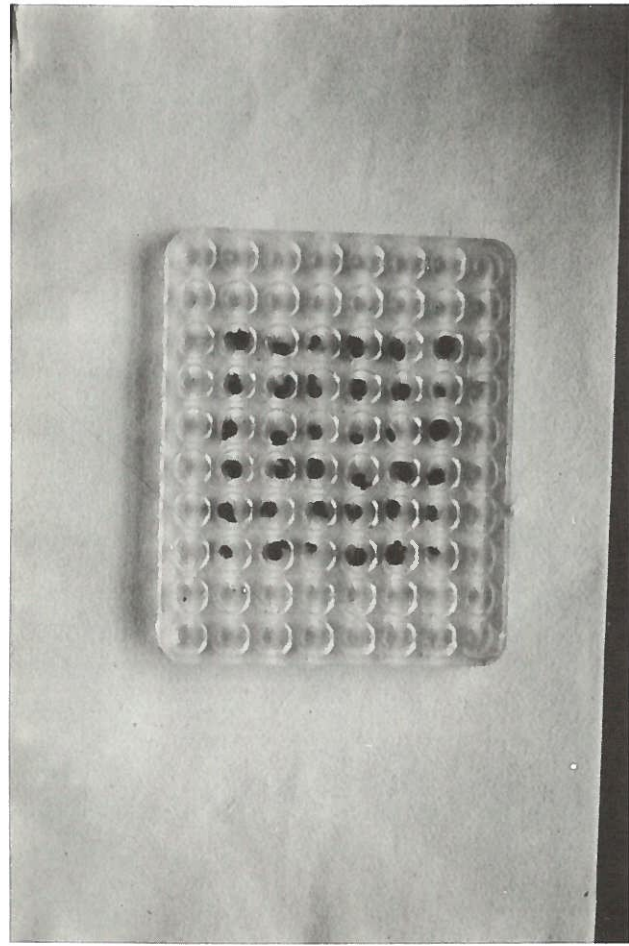


Fig. 3.—Detalle de la infestación de moluscos.

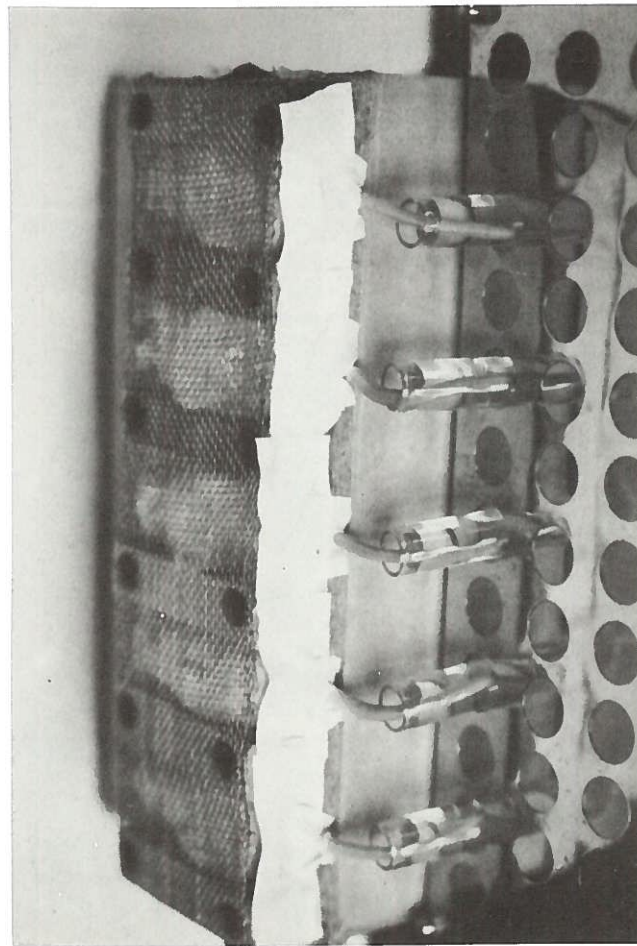
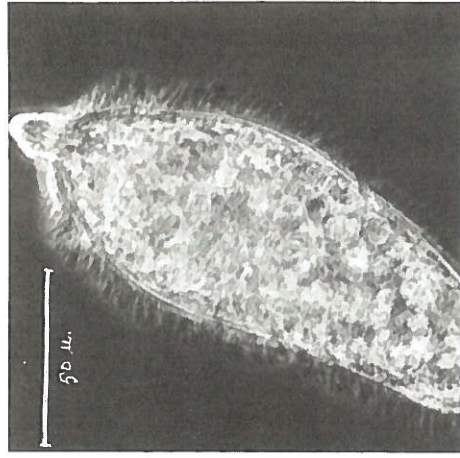
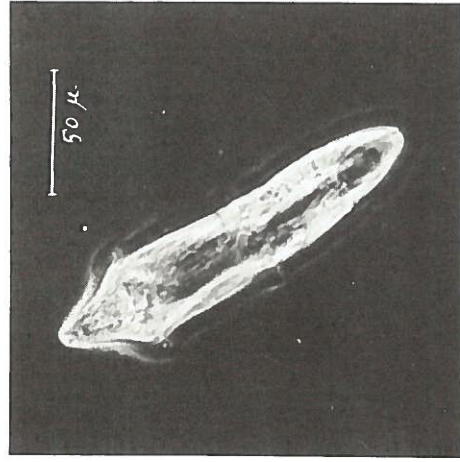
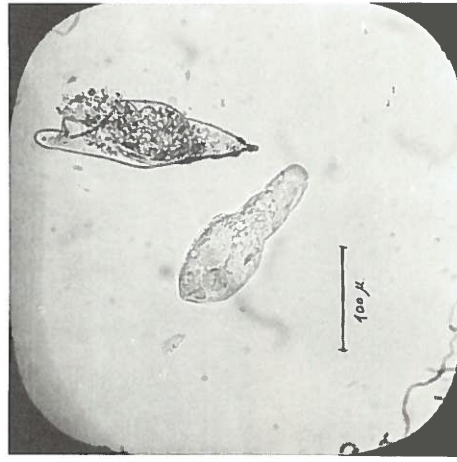


Fig. 4.—Detalle de la infestación de ratones.



Figs. 5 y 6.—Miracidios libres de *S. bovis* mostrando algunos detalles estructurales.



Figs. 7 y 8.—Eclosión del huevo de *S. bovis*.

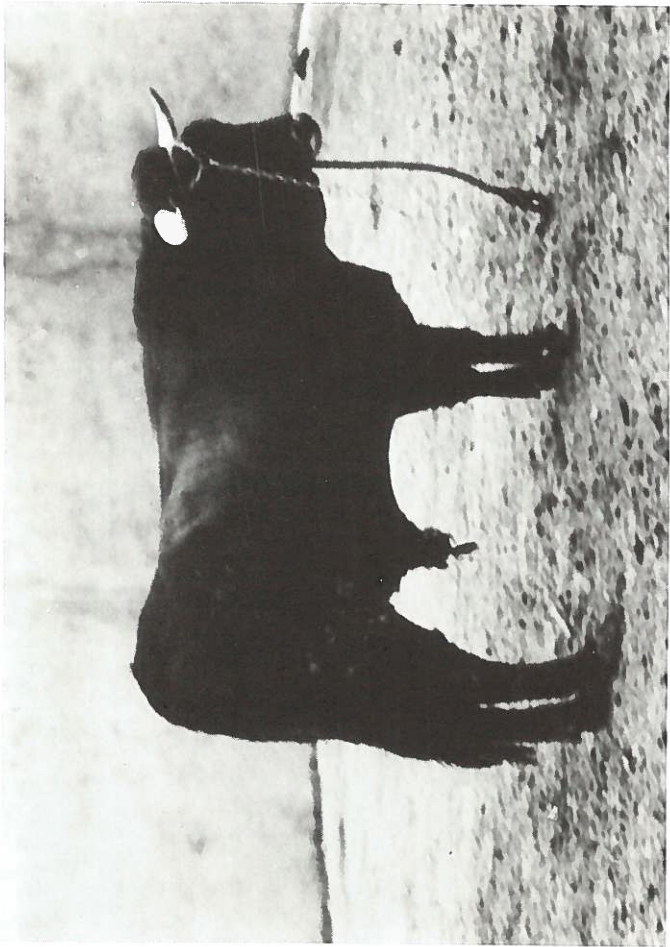
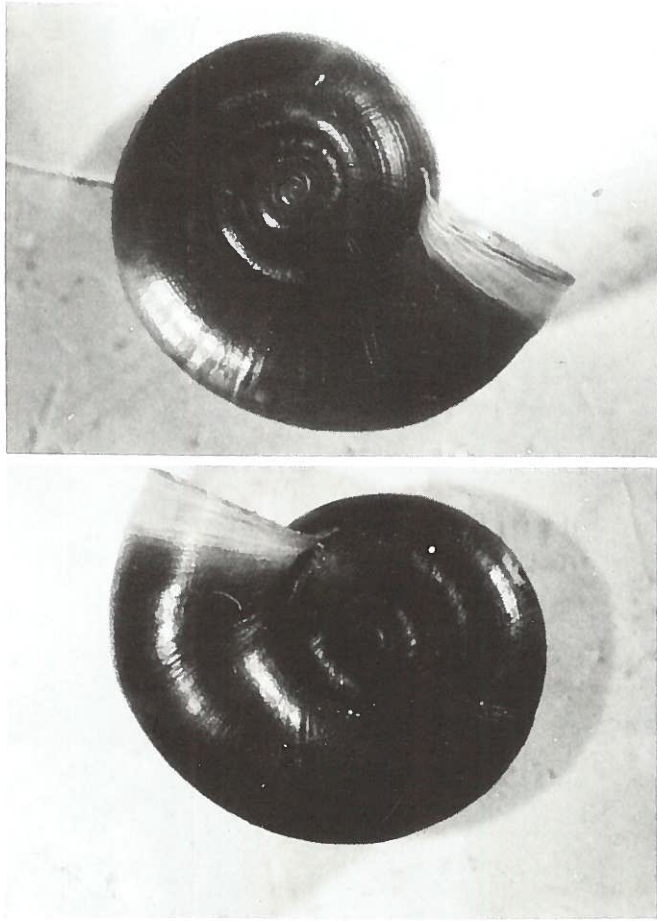


Fig. 9.—Novillo de la Fig. 2, 18 meses después y en ausencia de reinfestaciones.



Figs. 10 y 11.—*Planorbarius metidjensis*, por ambos lados y aumentado su tamaño 10 veces.

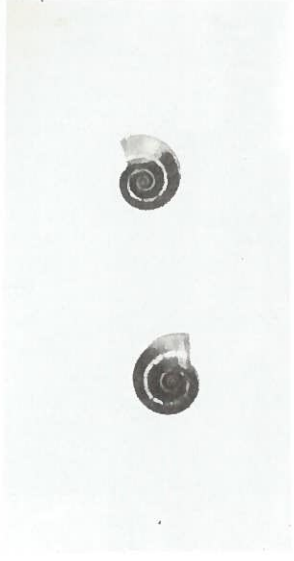


Fig. 12.—*Planorbarius metidjensis*.
Tamaño natural.

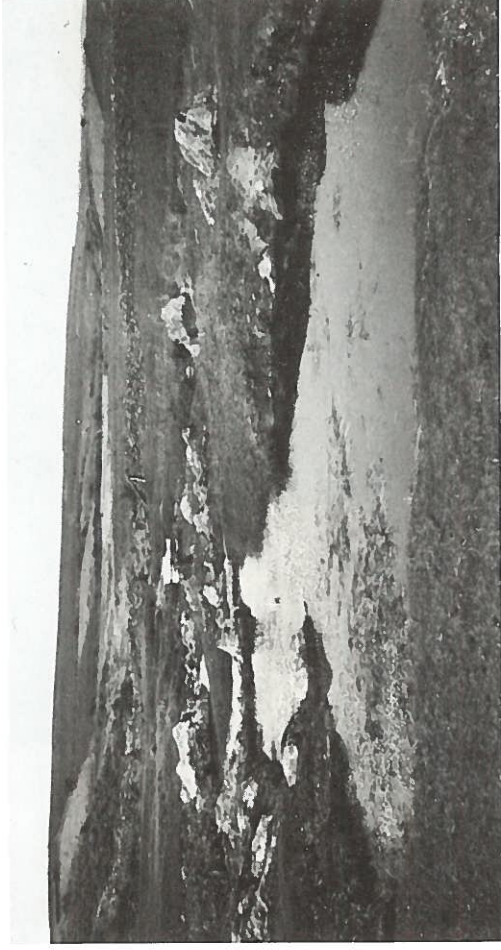


Fig. 13.—Criadero de *Planorbarius*; arroyo de corriente temporal. (Martíago).



Fig. 14.—Arroyo que se surte de fuentes, en el que habitan *Planorbarius*. (Pozos de Hinojo).



Figs. 15 y 16.—Abrevaderos artificiales donde se crían abundantes *Planorbis*. (Villar de la Yegua).

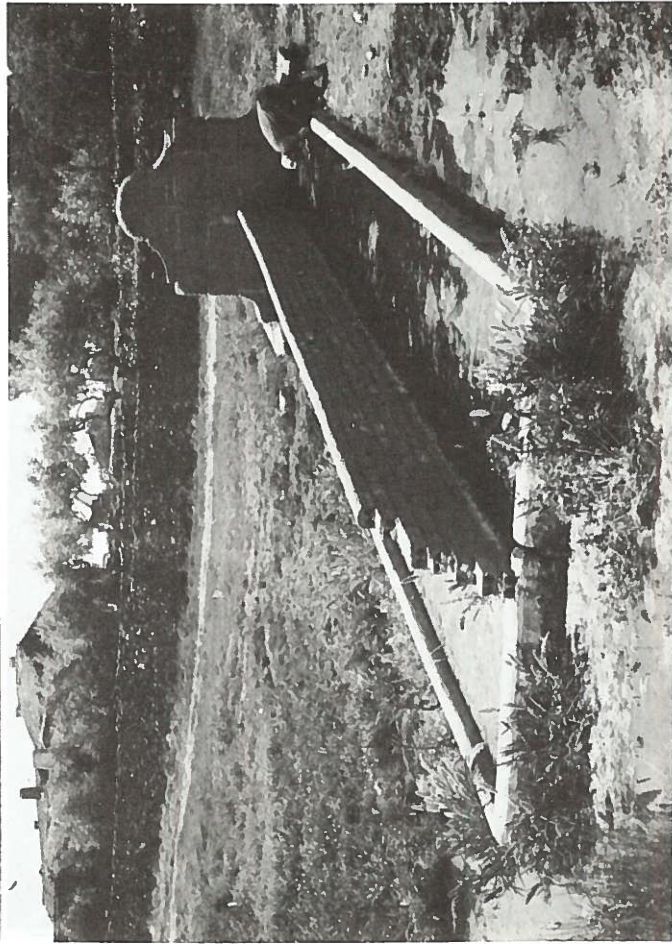


Fig. 17.—Detalle de los esporocistos de *S. bovis*

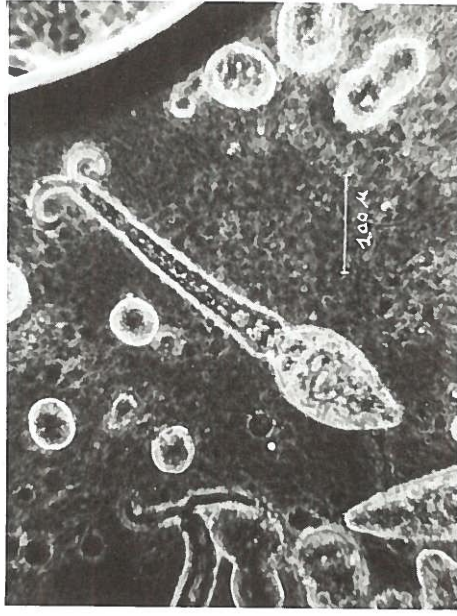
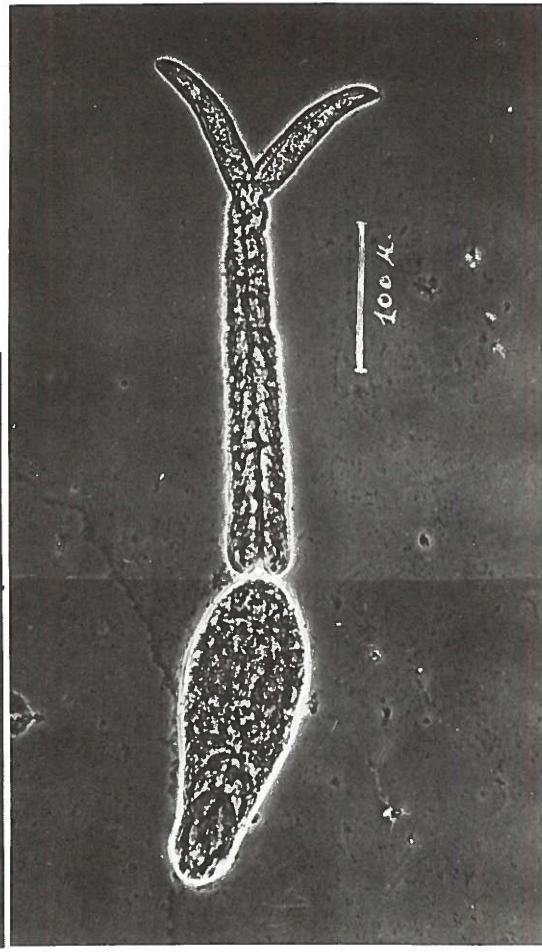


Fig. 18.—Cercaria madura de *S. bovis*. entre células germinales de los esporocistos.



Figs. 19 y 20.—Cercarias libres de *S. bovis*.

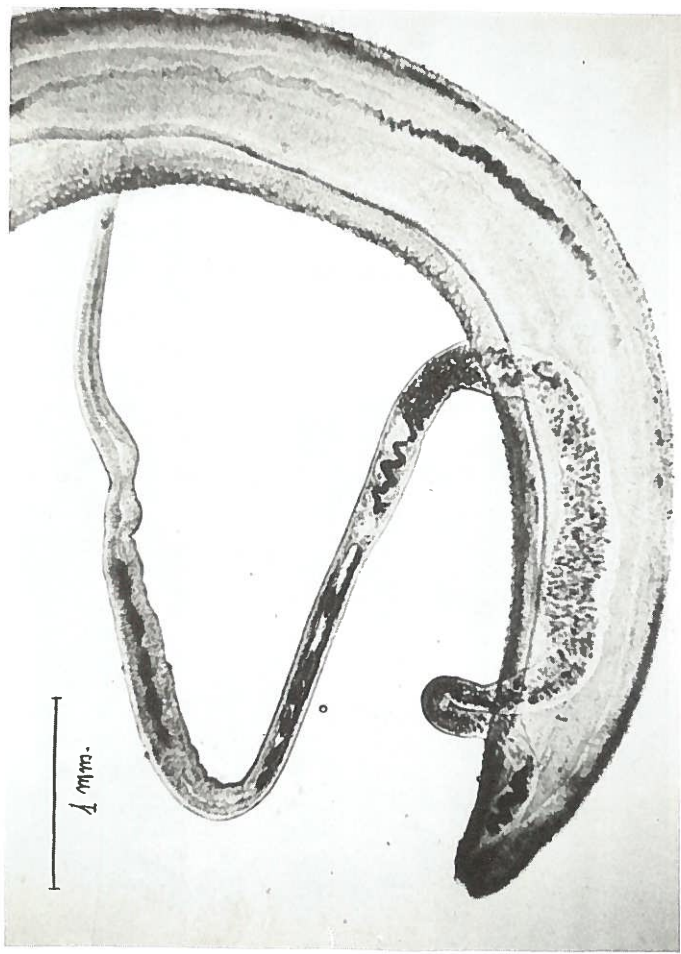
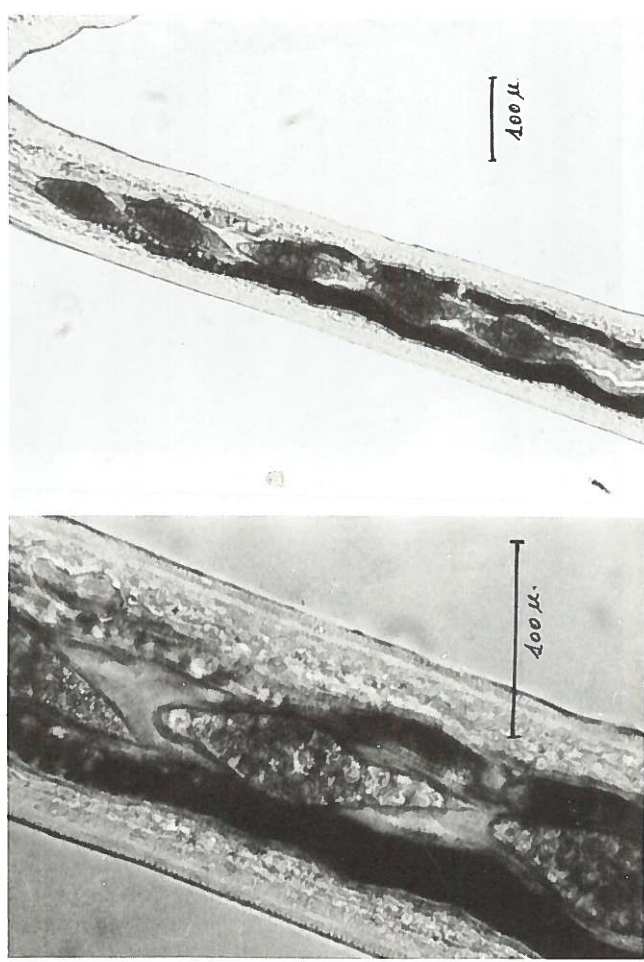
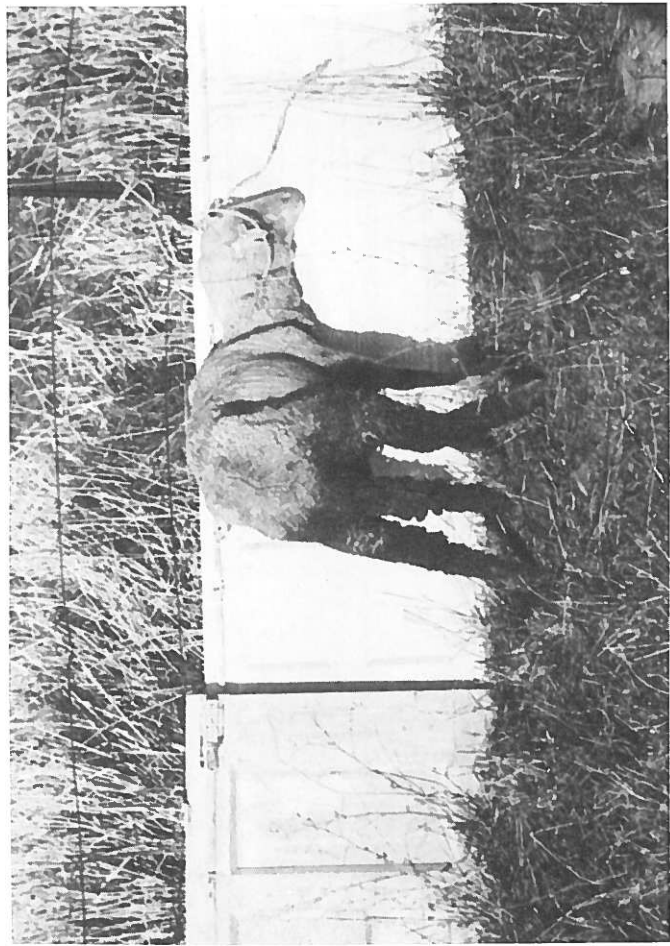


Fig. 21.—Pareja de *S. bovis* de ratón.



Figs. 22 y 23.—Huevos *in utero* en hembra de *S. bovis* procedente de ratón.



Figs. 24 y 25.—Cordero de 6 meses infestado con 4,000 cercarias de *S. bovis*, a los 3 meses de la infestación.