

Rev Inv Vet Perú 2009; 20 (1): 58-65

PRESENCIA DE CARACOLES LYMNÆIDAE CON FORMAS LARVARIAS DE *Fasciola hepatica* EN ALTITUDES SOBRE LOS 4000 MSNM EN LA SIERRA SUR DEL PERÚ

PRESENCE OF LYMNÆIDAE SNAILS WITH LARVAE OF *F. hepatica* IN ALTITUDES OVER 4000 M ABOVE SEA LEVEL IN THE SOUTHERN HIGHLANDS OF PERU

Pablo Londoño B.¹, Amanda Chávez V.^{1,2}, Olga Li E.³, Francisco Suárez A.⁴ y Danilo Pezo C.⁵

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de formas larvarias de *F. hepatica* y las especies de caracoles hospederos intermediarios de *F. hepatica* en altitudes superiores a 4000 msnm. Se trabajó en tres altitudes (4000 a 4200, 4200 a 4300, y 4300 a 4500 msnm) colectándose 150 caracoles por cada altitud en la época de lluvias (enero-marzo) del 2004. El área pertenece a la Estación Experimental de la Raya, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Se utilizaron 50 caracoles para la medición de la concha, 50 para observar el aparato reproductor y la rádula a fin de identificar las especies, y 50 para verificar la presencia de formas larvarias de *Fasciola hepatica*. Se encontró caracoles de la especie *Lymnaeaviatrix* entre 4000 a 4200 msnm y de la especie *Pseudosuccinea columella* entre 4200 a 4500 msnm. El porcentaje de infestación de los caracoles con las formas larvarias de *Fasciola hepatica* fue de 48, 46 y 36% a 4000-4200, 4200-4300, y 4300-4500 msnm, respectivamente, demostrando que el parásito puede sobrevivir sobre los 4000 msnm. La relación entre el nivel de infestación y altitud fue inversamente proporcional.

Palabras clave: distoma, *Lymnaea viatrix*, *Pseudosuccinea columella*, altitud, infestación, formas larvarias

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the presence of *F. hepatica* larvae and the species of snails that are intermediary hosts of *F. hepatica* in altitudes over 4000 m above the sea level (masl). The study covered three altitudes (4000-4200, 4200-4300, 4300-4500 masl) and was collected 150 snails per each altitude during the rainy season (January-March, 2004). The area is part of La Raya Experimental Research Station of San Antonio de Abad University, Cusco. Fifty snails were used for measuring the shell, 50 for observing the reproductive organs and the radula to identify the species, and 50 to

¹Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, ³Laboratorio de Patología Clínica, ⁴Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, ⁵Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA-Maranganí, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

²E-mail: achavezvg@gmail.com

observe the larva forms of *Fasciola hepatica*. Snails found at 4000-4200 masl were of the *Lymnaea viatrix* species and at 4200-4500 of the *Pseudosuccinea columella* species. The level of infestation with larva forms of *Fasciola hepatica* was 48, 46 and 36% at 4000-4200, 4200-4300, and 4300-4500 masl respectively, and this shows that the parasite can survive over 4000 masl. The relationship between level of infestation and altitude was inversely proportional.

Key words: distoma, *Lymnaea viatrix*, *Pseudosuccinea columella*, altitude, infestation, larva forms

INTRODUCCIÓN

La Distomatosis es una de las enfermedades más importantes que afectan la producción ganadera a nivel mundial, principalmente por las pérdidas económicas que ocasiona; y en el Perú, es la segunda enfermedad en importancia. Es producida por la *Fasciola hepatica* (Leguía y Casas, 1999), afecta a numerosas especies de animales domésticos y silvestres, y constituye un problema de salud pública (Hurtado y Tantaleán, 1998).

La *Fasciola hepatica* elimina sus huevos por medio de las heces. El miracidio ciliado, al salir del huevo, no es una larva simple; posee glándulas secretoras necesarias para penetrar al hospedador intermediario. Cuando la larva encuentra la especie de *Lymnaea* adecuada, pierde los cilios y se inicia la "explosión reproductiva" en cadena, es decir, las redias madres existentes dentro del esporocisto son liberadas y de inmediato comienzan a generarse las redias hijas. Este proceso multiplicador y asexual ocurre principalmente en el hepatopáncreas del molusco. Finalmente, salen las cercarias bien diferenciadas y se adhieren a las hojas de los berros acuáticos al secretar un fluido gomoso y elástico que al solidificarse forja la metacercaria infectante (Carrada-Bravo, 2003).

En el Perú, las pérdidas que ocasiona la distomatosis a la ganadería nacional han sido estimadas en cerca de 11 millones de dólares anuales (Rojas, 1990). Así mismo, el Ministerio de Agricultura del Perú (MINAG, 1973)

considera que esta enfermedad ocasiona pérdidas por cerca de 170,000 dólares anuales, solamente en camélidos sudamericanos (CSA), por concepto de mermas productivas y decomiso de hígados parasitados.

En el Perú se han descrito tres especies del caracol Lymnaeidae que son naturalmente infectadas con formas larvianas de *F. hepatica*: *Lymnaea viatrix* en Cajamarca y valle del Mantaro (Grados e Ibañez, 1971), *Lymnaea diaphana* en Arequipa (Córdova *et al.*, 1961) y *Pseudosuccinea columella* en Tingo María (Tantaleán y Huiza, 1976), así como una especie facultativa *Lymnaea cousini* (Larrea *et al.*, 1994).

Informaciones sobre la presencia de *F. hepatica* en altitudes superiores a los 4000 msnm son escasas. Se ha reportado tasas de infección entre 15 a 56% en niños y adultos de áreas rurales en la irrigación de Asillo, Azángaro, Puno (Sánchez *et al.*, 1993) que podrían demostrar que el parásito subsiste a temperaturas muy frías y a grandes alturas. El presente estudio se llevó a cabo para determinar la presencia de formas larvianas de *F. hepatica* y las especies de caracoles hospederos intermediarios de *F. hepatica* en altitudes superiores a 4000 msnm.

MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se realizó en tres áreas con altitudes de 4000 a 4200, 4200 a 4300 y 4300 a 4500 msnm, ubicadas en la Estación Ex-

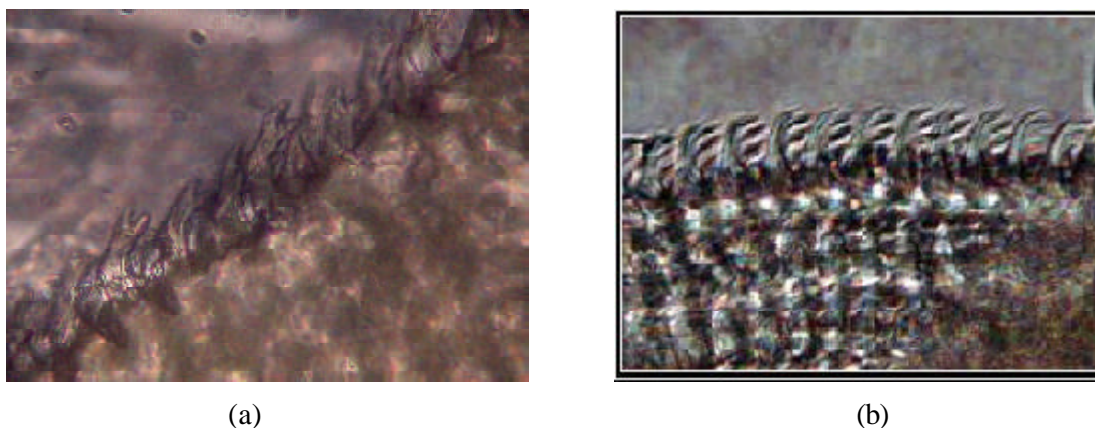


Figura 1. Vistas de la rádula de los dos tipos de caracoles encontrados entre los 4200 a 4500 msnm, en la Estación Experimental de La Raya- Universidad Nacional San Antonio de Abad, Cusco. (a) Imagen de un caracol *Lymnaea viatrix*. (b) Imagen de un caracol *Pseudosuccinea columella*

Cuadro 1. Morfometría de conchas de caracoles encontrados entre los 4200 a 4500 msnm, en la Estación Experimental de La Raya, Universidad Nacional San Antonio Abad, Cusco (2004)

Medidas	<i>Lymnaea viatrix</i>			<i>Pseudosuccinea columella</i>		
	Promedio	d.e.	Rango	Promedio	d.e.	Rango
Ancho (mm)	1.1	1.0	0.8 - 1.3	3.1	1.0	0.9 - 4.7
Largo (mm)	4.5	0.4	3.5 - 5.0	6.2	1.8	2.2 - 8.2
Circunvoluciones (N°)	4.24	0.43	4.0 - 5.0	3.0	0	3.0
Abertura (mm)	0.7	0.2	0.5 - 1.1	2.1	0.9	0.3 - 3.5

Cuadro 2. Índice de infección por formas larvarias de *Fasciola hepatica* en 50 caracoles por cada altitud entre los 4200 a 4500 msnm, en la Estación Experimental de La Raya, Universidad Nacional San Antonio Abad, Cusco (2004)

Altitud (msnm)	Especie	Caracoles positivos a formas larvarias		
		n	%	I.C. ¹
4000-4200	<i>Lymnaea viatrix</i>	24	48	14
4200-4300	<i>Pseudosuccinea columella</i>	23	46	14
4300-4500	<i>Pseudosuccinea columella</i>	18	36	13

¹ Intervalo de confianza al 95%

perimental de La Raya, Universidad Nacional San Antonio de Abad, Cusco, entre enero y marzo (época de lluvias) de 2004. La región presenta una temperatura media mensual de 12.1 °C, precipitación total mensual de 144.7 mm y humedad relativa media mensual de 73.7% en los meses de enero a marzo. Las muestras se trabajaron en los laboratorios del Centro de Investigación IVITA-Marangani de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Cusco.

Se colectaron 150 caracoles de la familia Lymnaeidae en cada una de las tres alturas ecológicas. De estos, 50 se emplearon para la identificación externa (concha), 50 para la identificación de la rádula y el aparato reproductor, y 50 para observar las formas larvarias de *Fasciola hepatica*, según trabajos realizados por Tantaleán *et al.* (2000).

Los caracoles se colectaron siguiendo el método descrito por Manga-González *et al.* (1991). En resumen, los lugares de colecta para cada sitio se escogieron en base a los siguientes criterios: a) lugares con gran cantidad de humedad, y sin presencia de agua, y b) lugares con agua estancada o de bajo movimiento de agua. En estos lugares se recorrió una trayectoria circular por el lapso de 15 minutos. Los moluscos se guardaron en bolsas plásticas, incluyendo agua y lodo, si había, y se llevaron al laboratorio para su respectiva identificación.

La identificación se hizo utilizando los criterios diagnósticos basados en la característica de la conchilla, la rádula y el aparato reproductor. En la disección de los caracoles, observación del aparato reproductor y montaje de la rádula se siguió los procedimientos señalados por Paraense (1976) y Malek (1985). En la caracterización se utilizó las claves de Larrea *et al.* (1994) y Prepelitchi *et al.* (2003).

En la visualización de las formas larvarias se tomó un caracol sobre un portaobjetos donde se añadió 3 gotas de agua.

Se le comprimió con una pinza de disección y se observó en el microscopio el movimiento y morfología de las formas larvarias (Leguía y Casas, 1999).

En la cuantificación de los resultados se empleó la estadística descriptiva, calculándose como medidas de posición la media aritmética y como medidas de dispersión, el rango y la desviación estándar (Pagano *et al.*, 2001). El nivel de caracoles parasitados por las formas larvarias de la *Fasciola hepatica* se expresó como frecuencias porcentuales relativas con sus respectivos intervalos de confianza del 95% mediante la fórmula para una proporción (Daniel, 1996).

RESULTADOS

Los caracoles colectados entre 4000 a 4200 msnm poseían una fórmula radular de 26-1-26, es decir, un diente central con una cúspide accesoria derecha, 26 dientes laterales triangulares cónicos y generalmente bicúspide a ambos extremos (Fig. 1a), indicativo de *Lymnaea viatrix*; mientras que los caracoles colectados en las otras dos zonas comprendidas entre los 4200 a 4500 msnm poseían una fórmula radular de 31-1-31, es decir: 1 diente central con una cúspide accesoria al lado izquierdo y 31 dientes laterales tricúspides a ambos extremos (Fig. 1b), indicativo de *Pseudosuccinea columella*.

Al observar las características del aparato reproductor, se determinó que un grupo de ellos presentaba un saco penial que representaba los 2/3 de la longitud total del prepucio y la próstata presentaba pliegues profundos, compatibles con la especie *Lymnaea viatrix*. En el otro grupo de caracoles, el saco penial era el 1/3 de la longitud total del prepucio y la próstata no presentaba pliegues, lo cual era compatible con la especie *Pseudosuccinea columella*.

Los tamaños promedio de algunas características morfológicas de las dos especies de

caracoles encontrados en el estudio se muestran en el Cuadro 1. Los caracoles de la especie encontrados en las dos altitudes bajo estudio (4200 a 4300 y 4300 a 4500 msnm) tenían medidas similares. En el Cuadro 2 se puede apreciar que el porcentaje de caracoles infectados fue inversamente proporcional a la altitud del hábitat del hospedero intermedio.

DISCUSIÓN

Se ha venido sosteniendo que tanto la *Fasciola hepatica* como sus formas larvarias en los hospederos intermediarios (*Lymnaea* sp.) no podrían desarrollarse en altitudes superiores a los 4000 msnm, donde la temperatura promedio se encuentra por debajo de 10 °C (Soulsby, 1987; Cordero del Campillo *et al.*, 1999); sin embargo, en este estudio se presentan nuevos hallazgos sobre la epidemiología de la distomatosis a esas alturas.

Caracoles pertenecientes a la familia *Lymnaeidae* fueron hallados en altitudes superiores a los 4000 msnm. Las características del sistema radular (Larrea *et al.*, 1994; Hurtado y Tantaleán, 1998), así como las evaluaciones morfológicas del aparato reproductor (Larrea *et al.*, 1993; Prepelitchi *et al.*, 2003) demostraron la presencia de *Lymnaea viatrix* y *Pseudosuccinea columella*. Este hallazgo difiere con lo observado por Larrea *et al.* (1994), quienes no hallaron al caracol *Pseudosuccinea columella* en la zona de Cusco y Puno, tal vez debido a que estos autores no evaluaron zonas altas como en el presente estudio o probablemente este hallazgo confirma la introducción de esta especie a nuevos hábitats.

Las dimensiones obtenidas para ambas especies fueron muy inferiores a las dimensiones de las conchas obtenidas por Larrea *et al.* (1993) en la zona de Cusco y Urubamba y por Hurtado y Tantaleán (1998) en la zona de Tacna. Estas variaciones en el tamaño pudieron deberse a la ubicación geográfica y

altitud, que determinaría fluctuaciones en el clima. La temperatura obtenida en el lugar de estudio entre enero y febrero varió entre 11.9 y 12.3 °C y la temperatura mínima media promedio fluctuó entre 4.7 y 6.8 °C (SENAMHI, 2004), lo que ocasionó que los caracoles se desarrollen en temperaturas cercanas a las condiciones mínimas de requerimiento (10 °C) (Fuentes *et al.*, 1999). Además, es posible que el ecosistema a alturas superiores a los 4000 msnm condicione la disponibilidad de nutrientes para los caracoles, limitando su desarrollo (Oviedo *et al.*, 1995).

El hallazgo de caracoles de la especie *Pseudosuccinea columella* en altitudes entre los 4200 a 4500 msnm es un indicativo de una mayor adaptabilidad a la altura que el caso del *Lymnaea viatrix* (Oviedo *et al.*, 1995). Por otro lado, estudios realizados sobre la epidemiología de la distomatosis han demostrado que los caracoles *Lymnaeidae* tienen una gran capacidad de propagación, al ampliar sus nichos ecológicos a zonas de altura y de medios ambientes adversos (Mas-Coma *et al.*, 1999a). El Perú presenta zonas de gran altitud, donde la densidad del aire y el oxígeno decrecen, siendo bajas la temperatura y la humedad; factores ambientales externos que según Fuentes *et al.* (1999), influyen negativamente en el desarrollo de las formas larvarias de *Fasciola hepatica* en los caracoles. En el presente estudio se demuestra lo contrario, pues tanto formas larvarias como el hospedero intermedio de *F. hepatica* logran adaptarse a temperaturas extremas y a altitudes superiores a los 4000 msnm.

El hallazgo de formas larvarias de *F. hepatica* en caracoles de la familia *Lymnaeidae* en altitudes superiores a los 4000 msnm constituyen evidencias que rectificarían estudios previos (Leguía y Casas, 1999), donde se indicaba que la prevalencia de distomatosis sería baja o nula en altitudes comprendidas entre 4100 a 4800 msnm, y con temperaturas medias anuales de 0 °C. Estudios realizados en humanos demuestran que

existen zonas de alta endemicidad a distomatosis en el altiplano boliviano (Esteban *et al.*, 1999; Fuentes *et al.*, 2001) y en el altiplano peruano (Esteban *et al.*, 2002) con una prevalencia de 15 y 24%, respectivamente. Otra explicación al incremento de áreas distomatósicas se debería al aumento de la carga animal y la movilización de animales de áreas con distoma a zonas libres. Así también, los cambios climáticos a nivel mundial debido al efecto invernadero o calentamiento global estarían contribuyendo al incremento de la temperatura de la zona altoandina beneficiando el desarrollo del caracol y de las formas larvianas de *Fasciola hepatica* en zonas de mayor altitud.

Oviedo *et al.* (1995) demostraron que el aislamiento geográfico y la adaptación a grandes altitudes ocasionan alteraciones en la morfología del parásito. Esto sugiere que parásitos como *Fasciola hepatica* y sus hospederos intermediarios hayan tenido que modificar su estructura para poder sobrevivir en hábitats extremos. Existen reportes de diferencias en el tamaño entre *Fasciola hepatica* adulta de bovinos versus ovinos y un estudio demuestra que la composición iónica de la *Fasciola hepatica* del bovino es diferente a la del ovino (Caseby *et al.*, 1995). Estas diferencias pueden reflejar adaptaciones fisiológicas del parásito a medioambientes diferentes que genéticamente determinan rasgos diferentes. Además, los caracoles de la familia Lymnaeidae están bajo fuerte presión de selección, porque la *Fasciola hepatica*, al igual que otros tremátodos, disminuyen el potencial reproductivo de sus hospederos intermediarios al parasitarlos. Esta circunstancia eleva la importancia de la evolución, reflejado en el evento de colonización, caracterizado por la peculiar dinámica poblacional de los caracoles dulceacuícolas (Frankham, 1997).

La identificación de las especies de caracoles presentes en la zona evaluada podría ser validada utilizando técnicas de PCR, ya que los resultados de este estudio demuestran variaciones significativas en las medidas

de la concha con respecto a otros estudios (Larrea *et al.*, 1993; Hurtado y Tantaleán, 1998). Existen estudios basados en técnicas de PCR en el altiplano boliviano donde las altitudes y las condiciones medio ambientales son similares, demostrando que el caracol *Lymnaea truncatula*, originario de Europa, fue introducido a América del Sur (Oviedo *et al.*, 1995; Bargues *et al.*, 1997; Jabbour-Zahab *et al.*, 1997; Mas-Coma *et al.*, 2001), constituyéndose en el hospedero intermedio en regiones altamente endémicas de fascioliasis humana en el altiplano norte boliviano (Esteban *et al.*, 1999; Mas-Coma *et al.*, 1999b).

CONCLUSIONES

- Los hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* pueden desarrollarse y hallarse en altitudes comprendidas entre los 4000 a 4500 msnm.
- Los caracoles *Lymnaea viatrix* y *Pseudosuccinea columella* se encontraron infectados con formas larvianas de *Fasciola hepatica* entre los 4000 y 4500 msnm.

LITERATURA CITADA

1. **Bargues MD, Mangold AJ, Muñoz-Antolí C, Pointer JP, Mas-Coma S. 1997.** SSU rDNA characterization of lymnaeids transmitting human fascioliasis in South and Central America. *J Parasitol* 83: 1086-1092.
2. **Carrada-Bravo T. 2003.** Fascioliasis. Diagnóstico, epidemiología y tratamientos. *Rev Gastroenterol Mex* 8: 135-142.
3. **Caseby RH, Harriot M, Fairweather I. 1995.** Ionic composition of the liver fluke *Fasciola hepatica* from different mammalian hosts and comparison with host bile. *Parasitol Res* 81: 394-397.

4. **Cordero del Campillo M, Rojo FA, Sánchez C, Hernández S, Navarrete J, Diaz P, Quiroz H, Carvalho M. 1999.** Parasitología veterinaria. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 968 p.
5. **Córdova E, Náquira F, Náquira C. 1961.** *Lymnaea diaphana* king, como huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en Arequipa. Arch Per Pat Clin 15: 165-172.
6. **Daniel WM. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª ed. México: Ed. Limusa. 878 p.
7. **Esteban JG, Flores A, Angles R, Mas-Coma S. 1999.** High endemicity of human fascioliasis between Lake Titicaca and La Paz valley, Bolivia. T Roy Soc Trop Med H 93: 151-156.
8. **Esteban JG, González C, Barges MD, Angles R, Sánchez C, Náquira C, Mas-Coma S. 2002.** High fascioliasis infection in children linked to a man-made irrigation zone in Perú. Trop Med Int Health 7: 339-348.
9. **Frankham R. 1997.** Do island populations have less genetic variation than mainland populations? Heredity 78: 311-327.
10. **Fuentes MV, Valero MA, Barges MD, Esteban JG, Angles R, Mas-Coma S. 1999.** Analysis of climatic data and forecast indices for human fascioliasis at very high altitude. Ann Trop Med Parasitol 93: 835-850.
11. **Fuentes MV, Malone JB, Mas-Coma S. 2001.** Validation of a mapping and prediction model for human fasciolosis transmission in Andean very high altitude endemic areas using remote sensing data. Acta Trop 79: 87-95.
12. **Grados O, Ibáñez N. 1971.** Huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en Cajamarca. Arch Per Pat Clin 25: 185-190.
13. **Hurtado C, Tantaleán M. 1998.** Identificación del huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en la provincia de Candarave, Tacna. Rev Per Parasitol 13: 62-65.
14. **Jabbour-Zahab R, Pointier JP, Jourdane J, Jarne P, Oviedo JA, Barges MD, Mas-Coma S, Angles R, Perera G, Bazan C, Khallaayoune K, Renaud F. 1997.** Phylogeography and genetic divergence of some lymnaeid snails, intermediate hosts of human and animal fascioliasis, with special reference to lymnaeids from the Bolivian Altiplano. Acta Tropica 64: 191-203.
15. **Larrea H, Vivar R, Oviedo ML, Huamán P, Pachas L. 1993.** Tres estudios sobre la familia Lymnaeidae, vectores de la fasciolosis en el Perú. Bol Lima 89: 85-96.
16. **Larrea H, Oviedo ML, Huamán P. 1994.** Descripción anatómica de *Lymnaea cousini* jousseame, 1887 hospedero potencial de *Fasciola hepatica* linnaeus, 1758 en algunas localidades del Perú. Bol Lima 91-96: 86-89.
17. **Leguía G, Casas E. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Lima: Ed de Mar. 190 p.
18. **Malek E. 1985.** Snail host of schistosomiasis and other snail-transmitted diseases in tropical América: A manual. Washington DC: Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 478. 325 p.
19. **Manga-González Y, González-Lanza C, Otero-Merino CB. 1991.** Natural infection of *Lymnaea truncatula* by the liver fluke *Fasciola hepatica* in the Porma Basin, León, NW Spain. J Helminthol 65: 15-27.
20. **Mas-Coma S, Esteban JG, Barges MD. 1999a.** Epidemiology of fascioliasis: a review and proposed new classification. Bull WHO 77: 340-346.
21. **Mas-Coma S, Angles R, Esteban JG, Barges MD, Buchon P, Franken M, Strauss W. 1999b.** The northern Bolivian altiplano: A region highly endemic for human fascioliasis. Trop Med Int Health 4: 454-467.

22. **Mas-Coma S, Funatsu IR, Bargues MD. 2001.** *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South América. *Parasitology* 123(Suppl): 115-127.
23. **[MINAG] Ministerio de Agricultura. 1973.** Estudios de la evaluación de problemas de carne en el Perú. Tomo V. Lima, Perú.
24. **Oviedo JA, Bargues MD, Mas-Coma S. 1995.** Lymnaeid snails in the human fascioliasis high endemic zone of the Northern Bolivian Altiplano. *Res Rev Parasitol* 55: 35-43.
25. **Pagano M, Gauvreau K, Yescas JM. 2001.** Fundamentos de bioestadística. 2^{da} ed. México: Thomson Learning. 525 p.
26. **Paraense WL. 1976.** *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca: Lymnaeidae). *Rev Brasil Biol* 36: 419-428.
27. **Prepelitchi L, Kleiman F, Pietrokovsky S, Moriena R, Racioppi O, Álvarez J, Wisnivesky-Colli C. 2003.** First report of *Lymnaea columella say*, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae) naturally infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea) in Argentina. *Mem Inst. Oswaldo Cruz* 98: 889-891.
28. **Rojas CM. 1990.** Parasitismo de los ruminantes domésticos. Terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Lima: MAIJOSA. 324 p.
29. **Sánchez C, Aparicio W, Hurtado C. 1993.** Distomatosis hepática en la población humana de la Irrigación de Asillo-Azángaro (Puno). *Res XI Cong Latinoam Parasitol.* Lima, Perú.
30. **SENAMHI. 2004.** Parámetros meteorológicos de la estación Sicuani-Cuzco-Perú. Oficina General de Estadística e Informática. Oficio N° 836.
31. **Soulsby EJ. 1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7^a ed. México: Ed Interamericana. 823 p.
32. **Tantaleán M, Huiza A. 1976.** Los hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en el Perú. Infección experimental de *Lymnaea columella say*. *Biota* 11(86): 34-37.
33. **Tantaleán M, Arroyo L, Miranda E. 2000.** *Lymnaea Columella Say (Pseudosuccinea columella)* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en el Perú. *Rev Per Parasitol* 15: 33-35.