

## ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

*GALBA TRUNCATULA* INDUCED TO INFECTION WITH MIRACIDIA OF *FASCIOLA HEPATICA*,  
COLLECTED IN HUAYLLAPAMPA, SAN JERÓNIMO, CUSCO, PERU

*GALBA TRUNCATULA* INDUCIDA A INFECCIÓN CON MIRACIDIOS DE *FASCIOLA HEPATICA*,  
COLECTADOS EN HUAYLLAPAMPA, SAN JERÓNIMO, CUSCO, PERU

Paul Iturbe Espinoza<sup>1,2</sup> & Flavia Muñoz Pareja<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Parasitológicas Regionales Inka-CIPRI Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco  
Av. La Cultura 733 Cusco

<sup>2</sup> iturbe555@hotmail.com, <sup>3</sup> fmpegog@yahoo.es

Suggested citation: Iturbe-Espinoza, P & Muñoz-Pareja, F. 2012. *Galba truncatula* induced to infection with miracidia of *Fasciola hepatica*, collected in Huayllapampa - San Jerónimo - Cusco, Peru. *Neotropical Helminthology*, vol. 6, N°2, pp. 211 - 217.

### Abstract

*Galba truncatula* snails were obtained from January to April 2011, from a sub urban biotope (Huayllapampa) district of San Jeronimo, Cusco, Peru, and considered hyperendemic. They were grown in an aquatic environment. They were experimentally infected (n= 215) with miracidia of *Fasciola hepatica*. The eggs were obtained from the gallbladder and bile ducts of three sheep with fasciolosis, screened and washed in boiled water cooled to incubate at a constant temperature of 26°C. The resulting collection of snails had an abundance of catch per unit effort of 150/h. Shells ranged between: 3.5 to 7.0 mm long, 2.2 to 3.6 mm in width. A survival 75.81%, of which 71.78% showed infection with *F. hepatica* was noted.

**Keywords:** culture - *Fasciola hepatica* - *Galba truncatula* - infection - miracidium.

### Resumen

Se cultivó caracoles limneidos *Galba truncatula*, obtenidos desde enero hasta abril de 2011, procedentes de una biotopo sub urbano considerado hiperendémico, Huayllapampa del distrito de San Jerónimo, Cusco, Perú. Se les mantuvo en un medio acuático y se les infectó a 215 con miracidios de *Fasciola hepatica*, obtenidos a partir de huevos tamizados y lavados en agua hervida enfriada provenientes de vesícula y conductos biliares de tres ovinos con fasciolosis. Se incubaron a temperatura constante de 26°C. La colecta de *G. truncatula* presentó una abundancia de captura por unidad de esfuerzo (CPUE) de 150 caracoles / h. La merística de sus conchas fluctuó entre: 3,5 – 7 mm de largo y 2,2 – 3,6 mm de ancho. La supervivencia fue de 75,81%, de los cuales 71,78% mostraron infección con *F. hepatica*.

**Palabras claves:** cultivo - *Fasciola hepatica* - *Galba truncatula* - infección - miracidio.

## INTRODUCCIÓN

Los limneidos son moluscos gasterópodos pulmonados, que viven en las orillas de riachuelos, abrevaderos, charcas, praderas inundadas, etc., es decir, donde hay agua dulce de corriente lenta (Carrada, 2007). La distribución de la fasciolosis depende de la presencia de este caracol limneido (Rodríguez *et al.*, 1987) que sirve de hospedador intermediario (Wilford, 1977), siendo susceptibles a infecciones por miracidios de *F. hepatica*, proveniente de huevos embrionados en el medio ambiente y cuyas larvas eclosionadas a temperaturas mayores a los 10°C, son guiadas por el fototropismo positivo, geotropismo negativo y quimiotactismo (Rojo & Ferré, 1999) a su hospedador intermediario (limneido). Esta larva ciliada posee una forma ovoide alargada, de unos 130 a 180 µm de largo (Athías, 1999), una papila móvil también llamado órgano perforador o terebratorium (Euzéby, 2001) y una glándula apical, cuya secreción colabora en la dilución de los tejidos en el proceso de penetración al limneido, depositándole enzimas histolíticas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Los miracidios tienen un intestino rudimentario, dependiendo completamente de las reservas alimenticias endógenas; las que duran menos de 24 h, limitándoles su búsqueda del caracol intermediario y causándoles entonces la muerte (Cordero del Campillo *et al.*, 1999); sin embargo su capacidad para invadir a su hospedero intermediario exitosamente es de 1,5 a 2 h posteriores a su eclosión, declinando lentamente esta capacidad (Ginetsinskaya, 1988), siendo la penetración con movimientos rítmicos regulares de contracciones y elongaciones de su cuerpo haciéndose más exitosa en el área de la cavidad pulmonar, probablemente porque el terebratorium del miracidio es más largo que el espesor de este epitelio, siendo menos exitosa en otras áreas que son más gruesas (Ginetsinskaya, 1988).

Las larvas de *F. hepatica* dentro del caracol ocasionan cambios histopatológicos que interrumpen el normal desarrollo de los caracoles hospedadores causándoles: liberación de hasta tres veces más calor que los no infectados, incremento de consumo del oxígeno, intensificación del metabolismo y por ende incremento de su tamaño (gigantismo) (Wilson & Denison, 1980; Ginetsinskaya, 1988; Dalton, 1999), que coincide

con la migración del esporocisto a través de sus tejidos (Thompson, 1997; Dalton, 1999), y alcanza aproximadamente el doble de su tamaño, habiéndose visto ello en en *Galba truncatula* (= *Lymnaea truncatula*) (Müller, 1774) (Wilson & Denison, 1980; Dalton, 1999), la destrucción del tejido conectivo y de las glándulas digestivas (Preveraud-Sindou *et al.*, 1994). La presión de las larvas en los tejidos causa la desaparición de la luz de los túbulos (Ginetsinskaya, 1988).

En consecuencia, la hemolinfa rica en oxígeno no llega a la glándula, resultando en anoxia y subsecuente autólisis de la glándula digestiva, junto a la acumulación de metabolitos de las larvas, que inducen a la desintegración de la glándula digestiva y a una substancial disminución del nivel del glicógeno (Thompson, 1997), incrementando así, el nivel de mortalidad de estos limneidos, siendo oportuno investigarlos, en un medio acuático, complementado con algas y otros nutrientes, para generarles infección inducida con miracidios de *F. hepatica* en laboratorio.

Los estudios sobre el cultivo de intermediarios de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) en el Perú, aún son escasos, por lo que el objetivo de la presente investigación fue realizar una colecta de limneidos del distrito de San Jerónimo, del departamento del Cusco, Perú e inducirlos infección con miracidios en diseño experimental, manteniéndolos en suficiente número y bajo condiciones controladas en laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron caracoles de enero a abril del 2011 de un curso de agua de uso agrícola, denominado Rumitabla, ubicado a 13° 32' 21.9" LS, 71° 52' 15,6" LW y 3324 m de altitud ( $\pm 8$  m), que transcurre a través de una arboleda de *Eucalyptus globulus Labill* correspondiente a Huayllapampa zona suburbana, distrito de San Jerónimo, próximo a la ciudad de Cusco, Perú. Se colectó agua para la evaluación de las características físico-químicas en el Laboratorio de Control de Calidad de SEDACUSCO SA (Entidad Municipal Prestadora de Servicios de Saneamiento). Se efectuó la búsqueda visual de caracoles sobre el substrato fijo o flotante en una superficie determinada de un m<sup>2</sup>, capturando el mayor

número posible, haciendo uso de una pinza y se trató de no dañar a los caracoles. Se estimó la abundancia de caracoles, mediante la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) (Prepelitchi, 2009), equivalente a 60 min de trabajo, e *in situ* colocándolos en la palma de la mano enguantada para constatar su orientación dextrógira. Se pasaron uno a uno al recipiente plástico, con agua del sitio de colecta, marbetados con la fecha y el lugar de muestreo y se llevaron al Laboratorio de Parasitología C-224 de la Facultad de Ciencias Biológicas; situados en la Ciudad Universitaria de Perayoc, Av. de la Cultura 733, Cusco, Perú, para su observación microscópica y verificación de la orientación dextrógira de la concha, su forma globosa y carencia de opérculo (Llop *et al.*, 2001), más la merística conquológica de 30 ejemplares elegidos al azar: LC = Largo de concha, AC = Ancho de concha, LA = Largo de abertura, AA = Ancho de abertura y LE = Largo de espira (Bargues *et al.*, 2007). Posteriormente fueron introducidos en un vial conteniendo alcohol etílico al 70% y enviados al Laboratorio de Biología Marina y Malacología de la Universidad de Perpignan, Francia, para su identificación molecular, correspondiendo según las observaciones hechas por Pointier a *G. truncatula*. Para cumplir con el tamaño muestral se consideró un nivel de confianza del 95%,  $Z = 1,96$ , una precisión de 3%, y el índice infección experimental de *L. viatrix* por *F. hepatica* en Perú, que es del 70% de acuerdo a Larrea *et al.* (2007), resultando 215 caracoles para iniciar la inducción a infección que se cultivaron en un acuario de 20 x 40 x 25 cm, con oxigenador eléctrico y 3,5 L de agua de clorada, complementada con nitrato a  $0,13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , calcio a  $0,92 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  modificando la composición del sustrato propuesto por Sánchez *et al.* (1995), fragmento de roca, más algas de los géneros *Oscillatoria* (Vaucher ex Gomont, 1892) y *Spirogyra* (Link, 1820) y plántulas de *Nasturtium officinale* (R. Br. in W.T. Aiton, 1812) de su biotopo natural, compensando la pérdida cada cuatro días, en condiciones de temperatura y humedad del ambiente del laboratorio, mensurando éstas con termo-higrómetro digital, correspondiendo a temperatura máxima de  $22,7^{\circ}\text{C}$ , y mínima de  $16,7^{\circ}\text{C}$ , humedad relativa promedio de 53%, temperatura en el agua de  $16,6 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Se dispuso de la iluminación natural que ingresa por las ventanas del laboratorio, con fotoperiodo de 12 h, y exposición a 3 h de luz solar directa.

Se descartaron los caracoles infectados naturalmente, identificándolos por poseer mayor tamaño (gigantismo) (Wilson & Denison, 1980; Ginetsinskaya, 1988; Dalton, 1999), teniendo en cuenta que los limneidos colectados provienen de una zona hiperendémica de fasciolosis. Se diseccionó 50 caracoles mediante la técnica de Olazabal *et al.* (1999), que consiste en situar al caracol en una placa Petri, añadir 3 mL de agua corriente, comprimir al molusco con una pinza, y con ayuda de agujas enmangada observar a estereoscopia y microscopia los estadios larvales de *F. hepatica* en la masa interna del caracol, con especial interés en el glándula digestiva, riñón y gónadas. Hallándolos sólo en caracoles de más de 9 mm de longitud correspondiendo al 2% de caracoles infectados en el biotipo de procedencia, por lo que se utilizó caracoles limneidos de una longitud menor, en el rango de 3,5 a 7 mm para ser utilizados en la infección inducida.

Para la obtención de miracidios se siguió la metodología utilizada por Iturbe & Muñiz (2010). Se colectaron los huevos de *F. hepatica* de la vesícula y el conducto biliar de tres hígados de ovinos con fasciolosis, sacrificados en el Camal Municipal de San Jerónimo, durante el mes de enero del 2011, se tamizaron y se lavaron en agua hervida enfriada, se colocaron  $20 \text{ cm}^3$  del sedimento en cada placa Petri por triplicado, a una temperatura constante de  $26^{\circ}\text{C}$  y en presencia de una lámpara eléctrica de 25 watts encendida como fuente de luz constante, agregando agua hervida enfriada para su compensación.

A once días de incubación, próximo a la eclosión de miracidios, los huevos de *F. hepatica* embrionados fueron vistos en el microscopio estereoscópico y con la ayuda de una jeringa descartable de 1 mL de volumen con aguja de  $0,40 \times 13 \text{ mm}$ , fueron distribuidos en número de cinco por pocillo (Placa Nummaxisorp - ELISA). Se observaron al día siguiente la eclosión de los miracidios, ya distribuidos en cada pocillo. Para facilitar la infección los caracoles fueron estresados (Abrous *et al.*, 2001), sometiéndolos a agua fría ( $6^{\circ}\text{C}$ ) por 15 min, luego fueron distribuidos individualmente con ayuda de una pinza en cada pocillo, que contenía a los miracidios de aproximadamente 1,5 h de eclosión (capacidad óptima del miracidio).

Para facilitar el contacto después de 2 h se verificó

la ausencia de miracidios en cada pocillo, como signo inequívoco de penetración en los caracoles.

De los 215 caracoles inducidos a infección, mediante muestreo por destrucción uno a uno fueron diseccionados cinco cada tres días, observándolos a estereoscopia y microscopía, simultáneamente (Olazabalet *al.*, 1999), que confirmó el número de caracoles infectados. Simultáneamente se cuantificó y descartó a los caracoles hallados muertos.

## RESULTADOS

Las aguas del biotopo natural presentaron las siguientes características fisicoquímicas: turbiedad 3,25 NTU, color 6,4 UC, pH 7,7, alcalinidad 157,6 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, dureza total 161,4 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, calcio 44,4 mg·L<sup>-1</sup>, magnesio 12,1 mg·L<sup>-1</sup>, cloruros 7,3 mg·L<sup>-1</sup>, sulfatos 110,6 mg·L<sup>-1</sup>, sólidos totales disueltos 238 mg·L<sup>-1</sup> y conductividad 470,0 uS·cm<sup>-1</sup>, consideradas

idóneas para el hábitat de limneidos hospedadores intermediarios de *F. hepatica*. El índice de abundancia de CPUE fue de 150 caracoles por h durante la tarde del día 12 de febrero del 2011, colectando 400 caracoles.

Se observó las características conquiológicas siguientes: concha globosa, sin opérculo de orientación dextrógira (Fig. 1). Las merísticas se muestran en la Tabla 1. De un total de 163 caracoles hallados vivos (Tabla 2), observados a estereoscopia y microscopía durante su disección se obtuvo el porcentaje de infección experimental (Tabla 3).

Durante la infección se evidenció que los miracidios eran guiados mediante su quimiotactismo al aglomerarse alrededor de los caracoles, para luego sujetarse utilizando sus papilas apicales e intentar penetrar al caracol limneido mediante constricciones y elongaciones de su cuerpo (Figs. 2 y 3).

**Tabla 1.** Merística de conchillas de *Galba truncatula* seleccionados para la infección con *Fasciola hepatica*.

Medidas (mm)	Media ± error estándar	Desviación estándar	Rango
Largo de concha (LC)	5,08±0,14	0,76	3,5 - 7
Ancho de concha (AC)	2,85±0,06	0,34	2,2 - 3,6
Largo de abertura (LA)	2,64±0,07	0,39	2,1 - 3,8
Ancho de abertura (AA)	1,74±0,04	0,21	1,4 - 2,3
Largo de espira (LE)	2,60±0,07	0,39	2 - 3,3

**Tabla 2.** Porcentaje de supervivencia de *Galba truncatula* post-infección sometidos a cultivo.

	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Caracoles vivos	163	75,81
Caracoles muertos	52	24,19
Total de caracoles	215	100

**Tabla 3.** Porcentaje de infección experimental de *Galba truncatula* con miracidios de *Fasciola hepatica*.

	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Caracoles infectados	117	71,78
Caracoles no infectados	46	28,22
Total de caracoles diseccionados	163	100





**Figura 1.** Características conquiológicas y merística de conchillas de *Galba truncatula* seleccionados para la infección con *Fasciola hepatica*. Vista al M. estereoscópico, sobre papel milimetrado.



**Figura 2.** Infección podal en *Galba truncatula* por miracidios de *Fasciola hepatica* vista estereoscópica.



**Figura 3.** Penetración de miracidio por el manto de *Galba truncatula*, vista estereoscópica.

## DISCUSIÓN

Se hallaron caracoles limneidos en un biotopo del sector de Huayllapampa, San Jerónimo (Cusco) en área suburbana a 3224 m de altitud, con condiciones físico-químicas óptimas constatadas en el análisis practicado. En el Perú, se han descrito tres especies de limneidos naturalmente infectados con formas larvarias de *F. hepatica*: *L. viatrix* (D'Orbigny, 1835), *L. diaphana* (King, 1830), *L. columella* (Say, 1817) y una facultativa *L. cousini* (Jousseau, 1887) (Larrea *et al.*, 2007; Londoño *et al.*, 2009). Se cuenta con varias zonas hiperendémicas de distomatosis hepática en los que no se conoce la especie de limneido involucrado. En algunas localidades o regiones donde pueden existir varios intermediarios no se conoce cuál es el principal y cual el potencial. En el biotopo de colecta se halló *G. truncatula* que adquiere importancia en la dispersión geográfica y colonización de nuevos biotopos de limneidos introducidos en el Perú, pareciera por el sur desde el altiplano de Bolivia (Meunier *et al.*, 2001 en Pointier *et al.*, 2007).

Los estudios sobre aspectos biológicos y ecológicos de limneidos en condiciones naturales o experimentales en biotopos de Cusco son escasos. En el presente estudio, la eficiencia para el cultivo resultó en un 75,81%, menor a lo reportado por Sánchez *et al.* (1995) en Cuba en condiciones controladas con caracoles libres de infección, donde obtienen 98 % de infectividad para *L. cubensis*, diferencia debida probablemente a la presencia del parásito inoculado y su consecuente perjuicio metabólico en *G. truncatula*. Bouix-Busson *et al.* (1983) utilizaron en su máximo límite, cinco miracidios de *F. hepatica*, más estrés térmico propuesto por Abrous *et al.* (2001), resultando en 71,78 % de infectados, menor a lo indicado por Abrous *et al.* (2001), que obtiene 94,5 %, y comparativamente similar a los obtenidos por Mas-coma *et al.* (2001), cuyos resultados de infección *in vitro* fueron 69,2%, pero sin someterlos a estrés térmico. Los limneidos presentan un mejor desarrollo en depósitos acuáticos ricos en algas, y en arroyos claros que en medios secos y fríos, por lo que según Quiroz (2003) se les dotó de berro (*N. officinale*) y de algas (*Spyrogira* y *Oscillatoria*) provenientes de su mismo biotopo natural. Por su morfología, la especie estudiada correspondió a *G. truncatula*, lo

que se confirmó por la prueba molecular. Este es el primer reporte de *G. truncatula* para la zona de Cusco, Perú.

## AGRADECIMIENTO

A Jean Pierre Pointier por su apoyo incondicional en la identificación *G. truncatula*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrous, M, Rondelaud, D & Dreyfuss, G. 2001 *The stress of Lymnaea truncatula just before miracidial exposure with F. hepatica increased the prevalence of infection.* Experimental Parasitology, vol. 99, pp. 49-51.
- Athías, A. 1999. *Parasitología clínica.* 3<sup>ra</sup> Ed. Mediterráneo. Santiago de Chile, Chile.
- Bargues, MD, Artigas, P, Mera y Sierra, RL, Pointier, JP & Mas-Coma, S. 2007. *Characterisation of Lymnaea cubensis, L. viatrix and L. neotropica n. sp., the main vectors of Fasciola hepatica in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA.* Annals of Tropical Medicine & Parasitology, vol. 101, pp. 621-641.
- Bouix-Busson, D, Rondelaud, D & Prevost, J. 1983. *Effect of the number of miracidia and age of the mollusc on the survival and degree of infestation of Lymnaea glabra Muller by Fasciola hepatica.* Annales de Parasitologie Humaine et Compare. vol. 58, pp. 347-352.
- Carrada, T. 2007. *F. hepatica; Ciclo biológico y potencial biológico.* Revista Mexicana de Patología Clínica, vol. 54, pp 21-27.
- Cordero del Campillo, M, Rojo F, Martínez, A, Sánchez, C, Hernández, S, Navarrete, J, Díez, P, Quiroz, H & Carvalho M. 1999. *Parasitología Veterinaria.* Ed. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid, España.
- Dalton, JP. 1999. *Fasciolosis.* Ed. CABI Publishing. Dublin City University, Republic of Ireland.
- Euzéby, J. 2001. *Los parásitos de las carnes.* Ed. Acribia SA, Zaragoza, España.
- Ginetsinkaya, T. 1988. *Trematodes, their life cycles, biology and evolution.* Amerind

- Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.
- Iturbe, P & Muñiz, F. 2010. *Desarrollo de huevos de Fasciola hepatica a partir de huevos aislados de la vesícula biliar de ovinos y vacunos, expuestos a luz y oscuridad*. Neotropical Helminthology, vol. 5, pp. 89-93.
- Larrea, H, Flórez, M, Vivar, R, Huamán, P & Velásquez, P. 2007. *Hospederos intermediarios de F. hepatica en el Perú*. Revista Horizonte Médico, vol. 7, pp. 39-46.
- Llop, A, Valdés-Dapena, V & Suazo, S. 2001. *Microbiología y parasitología médica*. Tomo III, Ed. Ciencias Médicas, Ciudad de la Habana Cuba.
- Londoño, P, Chávez, A, Li, O, Suárez, F & Pezo, D. 2009. *Presencia de caracoles lymnaeidae con formas larvarias de F. hepatica en altitudes sobre los 4000 msnm en la sierra sur del Perú*. Revista de investigaciones veterinarias del Perú, vol. 20, pp. 58-65.
- Mas-Coma, S, Funatsu, I & Bargues, M. 2001. *F. hepatica and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America*. Parasitology, vol. 123 Suppl, pp. S115-S127.
- Olazabal, E, Morales, A, Serrano, P & Brito, E. 1999. *Obtención de metacercarias de F. hepatica en Lymnaea cubensis y relación parásito hospedero en ratas Wistar y ratones Balb/c*. Revista Veterinaria de México, vol. 30, pp 102-109.
- Pointier, JP, Coustau, C, Rondelaud, D & Theron, D. 2007. *Pseudosuccinea columella (Say 1817) (Gasteropoda, Lymnaeidae), snail host of Fasciola hepatica: first record for France in the wild*. Parasitology Research, vol. 101, pp.1389-1392.
- Prepelitchi, L. 2009. *Ecoepidemiología de Fasciola hepatica (Trematoda, Digenea) en el Norte de la Provincia de Corrientes destacando aspectos ecológicos de Lymnaea columella (Pulmonata, Lymnaeidae) y su rol como hospedador intermediario*. Tesis presentada para optar el título de Doctor. Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas. Argentina.
- Preveraud-Sindou, M, Dreyfuss, G & Rondelaud, D. 1994. *Comparison of the migrations of Fasciola hepatica sporocysts in Lymnaea truncatula and other related snail families*. Parasitology Research, vol. 80, pp. 342-345.
- Quiroz, H. 2003. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Ed. Limusa, España.
- Rodríguez, E, Morales, G, Pino, L & Perdomo, L. 1987. *Estadísticas vitales de Lymnaea columella (Say, 1817) en condiciones de laboratorio (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae)*. Acta Científica Venezolana, vol. 38, pp.465-473.
- Rojo, F & Ferré, I. 1999. *Parasitosis hepáticas en Parasitología Veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana Madrid.
- Sánchez, R, Perera, G & Sánchez, J. 1995. *Cultivo de Fossaria cubensis (Pfeiffer) (Pulmonata: Lymnaeidae) hospedero intermediario de F. hepatica (Linnaeus) en Cuba*. Revista Cubana de Medicina Tropical, vol.47, pp. 71-73.
- Thompson, SN. 1997. *Physiology and biochemistry of snail-larval trematode interations*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 149-196.
- Wilford, O. 1977. *Parasitología Animal II*. 3<sup>ra</sup> Ed. University Park Press, Baltimore, Maryland, U.S.A.
- Wilson, RA & Denison, J. 1980. *The parasitic castration and gigantism of Lymnaea truncatula*. Parasitology Research, vol. 79, pp.259-260.

Received August 24, 2012.  
Accepted October 11, 2012.

\*Author for correspondence / Autor para correspondencia:

Paul Iturbe Espinoza

Facultad de Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Parasitológicas Regionales Inka-CIPRI. Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco. Av. La Cultura 733 Cusco, Perú.

E-mail/ correo electrónico:  
iturbe555@hotmail.com