

ESTUDIO DEL FOCO EN UN CASO DE FASCIOLISIS HUMANA EN NEUQUEN

DIANA RUBEL, LUCILA PREPELITCHI, FLORENCIA KLEIMAN, SILVANA CARNEVALE¹, CRISTINA WISNIVESKY-COLLI

Unidad Ecología de Reservorios y Vectores de Parásitos, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; ¹Servicio de Inmunología Parasitaria, Departamento de Parasitología, ANLIS Carlos G. Malbrán, Buenos Aires

Resumen El objetivo del trabajo fue realizar un estudio de foco relacionado con un caso de fasciolosis humana ocurrido en abril de 2002 en Loncopué, Neuquén, Argentina. La confirmación diagnóstica se efectuó en mayo de 2002 por el test de ELISA. En noviembre de 2002 se realizó un muestreo en el área rural donde se ubicaba la vivienda de la paciente, ya restablecida, y se le tomó una nueva muestra de sangre. El suero de la paciente continuó reactivo para antígenos de *Fasciola hepatica*. Se muestrearon plantas de berro para detectar metacercarias. Se recolectaron caracoles en cuatro canales de riego conectados a un canal principal. Los caracoles fueron trasladados vivos para su identificación, medición y examen de infección. Se recolectaron 35 muestras fecales de ganado de cría. No se observaron metacercarias en las hojas de berro examinadas (n=222). Se recolectaron 130 caracoles identificados como *Lymnaea viatrix* y 2 de 101 ejemplares (2%) estaban infectados con larvas de *F. hepatica*. Las prevalencias en el ganado adulto fueron: 100% (10/10) para caprinos, 82% (9/11) para ovinos y 86% (6/7) para bovinos. El número de huevos eliminados por las cabras (mediana = 20.7; Q1=6.2; Q3=34.5) y ovejas (4, 18, 13) infectadas, resultó mayor que el eliminado por vacas (0.3; 0.3; 1.7) ($p<0.01$). La práctica de control local no tuvo efecto aparente en este caso, por lo que deberían revisarse los calendarios de tratamiento y los antiparasitarios utilizados. Los resultados muestran que el ganado criado a pequeña escala por los pobladores debe incluirse en los programas de control. Se discute la posible importancia de la fasciolosis humana en Argentina.

Palabras clave: fasciolosis humana, foco, Neuquén, Argentina, caprinos, ovinos, bovinos

Abstract *A focus study from a case of human fascioliasis in Neuquén.* An epidemiological focal study was performed in Loncopué, Neuquén, Argentina, in November 2002 to detect the origin of the infection in a human case of fascioliasis confirmed by an indirect-ELISA test, six months before the study. Thirty five individual fecal samples were taken from domestic livestock, and watercress plants and snails were collected from the irrigation ditches connected to a main canal in the surroundings of the patient's house. A new blood sample was taken from the already recovered patient. The patient was still seropositive to *Fasciola hepatica* antigens. No metacercariae were found in the 222 watercress leaves checked. All the snails collected (n=130) were identified as *Lymnaea viatrix* and two out of 101 (2%) were infected with *F. hepatica* larvae. Coprological analysis showed *F. hepatica* eggs in 100% of goats (10/10), 82% of sheep (9/11) and 86% of bovines (6/7). The number of eggs per gram shed by positive goats (median=20.7, Q1=6.2, Q3=34.5) and sheep (4, 1.8, 13) was significantly higher than in cows (0.3, 0.3, 1.7) ($p<0.01$). Local veterinary control programs were apparently not effective in this case. Anthelmintics used and treatment schedule should be revised and small herds raised at households should also be included and treated.

Key words: human fascioliasis, focus, Neuquén, Argentina, goat, sheep, cow

La fasciolosis, distomatosis o *saguaypé*, es una zoonosis de distribución mundial, causada por *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea), un helminto de las zonas templadas, que tiene un ciclo indirecto de transmisión, con un caracol como hospedador intermediario y

diversos mamíferos herbívoros como hospedadores definitivos (ovinos, bovinos, caprinos, equinos, camélidos, suinos, lagomorfos, roedores).

La infección humana es considerada una zoonosis emergente por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y los informes más recientes estiman que 2.4 millones de personas estarían infectadas en el mundo¹. No obstante, como esta parasitosis no es de denuncia obligatoria, ni tiene sintomatología patognomónica y el diagnóstico de certeza presenta ciertas dificultades, es posible que el número de infectados sea mayor. En las distintas regiones, los patrones epidemiológicos y las prevalencias son muy variables y de acuerdo con ellas

Recibido: 15-X-2004

Aceptado: 16-III-2005

Dirección postal: Dra. Diana Rubel, Unidad Ecología de Reservorios y Vectores de Parásitos, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Nuñez, Pab. II, 4º piso, Lab. 54. 1428 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4576-3384 e-mail: dianaru@bg.fcen.uba.ar

pueden determinarse áreas hipoendémicas, mesoendémicas (3-8%) e hiperendémicas (10-66% y hasta el 100% en ciertos grupos laborales)²⁻⁴. En Sudamérica, el riesgo de transmisión es conocido y elevado en algunas poblaciones de Bolivia, Perú y Ecuador, en donde la población humana participa activamente en la transmisión debido a sus hábitos alimentarios y las condiciones deficientes de saneamiento⁴.

En Argentina no se conoce la importancia de esta enfermedad en humanos, ya que no existen registros sanitarios. El primer caso de infección humana fue detectado y notificado en los alrededores de la ciudad de Resistencia, Provincia del Chaco, a mediados del siglo pasado⁵ y en el 2000 se registró un caso en la Provincia de San Luis⁶. Un reciente relevamiento serológico realizado en la misma zona detectó un 11% de seropositividad sobre 34 muestras tomadas al azar en la población (Carnevale, datos inéditos).

En la provincia de Neuquén, para la última década, el decomiso de hígados vacunos por fasciolosis alcanzó una frecuencia mayor al 90%⁷. No se notificaron casos humanos.

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio de foco asociado a un caso de fasciolosis.

Materiales y métodos

Descripción del caso: En abril de 2002 se diagnosticó un caso de fasciolosis humana en la localidad de Loncopué, provincia de Neuquén. La infección ocurrió en una mujer de 20 años de edad residente en el área rural. Acudió a las primeras consultas en el Hospital José Cuevas presentando cólicos biliares recurrentes y fiebre intermitente, y durante el examen físico se le detectó hepatomegalia. En los análisis de laboratorio se observaron 24 000 leucocitos, 46% eosinófilos, fosfatasa alcalina: seis veces aumentado el valor normal, bilirrubina total normal y transaminasa glutámico-oxalacética, tres veces aumentado el valor normal. La ecografía mostró hígado heterogéneo, vía biliar no dilatada y adenopatía en hilio hepático.

La confirmación diagnóstica se efectuó el 5 de mayo de 2002 por medio del test de ELISA para anticuerpos contra *F. hepatica*⁸ en el Departamento de Parasitología, INEI, ANLIS Carlos G. Malbrán, en Buenos Aires. No fue remitida ninguna muestra fecal para diagnóstico parasitológico.

El tratamiento se realizó con triclabendazol (400mg/día v.o. por 2 días), y el seguimiento se llevó a cabo mediante análisis de laboratorio: hemograma, hepatograma y función renal. Los análisis posteriores al tratamiento (noviembre 2002), mostraron hepatograma normal, recuento de leucocitos normal, 4% eosinófilos, bajos valores de albúmina y anemia.

Área de estudio: El estudio se realizó en un establecimiento ganadero ubicado a unos 20 kilómetros del casco urbano de la localidad de Loncopué, Neuquén (70°37' O, 38°04' S), ubicada en los valles precordilleranos, que posee una población de 6000 habitantes, 4000 residentes en el casco urbano y el resto en áreas rurales. La precipitación media anual es de 500 mm y la temperatura media anual es de 5°C. En esta zona el ganado bovino se introdujo durante la década de 1980, ya que tradicionalmente sólo se criaba ganado caprino y ovino. En el establecimiento del estudio existían 2 viviendas rurales distantes unos 1000 metros entre sí, don-

de residían dos núcleos familiares: la paciente con su marido y su hija en una vivienda, y su suegra con dos hijos en la otra. Entre las dos viviendas hay 4 canales de riego conectados a un canal principal (canal 5 en la Fig. 1).

Metodología general: Durante el mes de noviembre de 2002, se realizó el estudio de foco en los alrededores de la vivienda 1 (Fig. 1). Se entrevistó a los adultos presentes: la paciente, ya restablecida y sin presentar ningún síntoma, su marido y la madre de este último.

Se extrajo una nueva muestra de sangre de la paciente y el suero se remitió al Departamento de Parasitología, INEI, ANLIS Carlos G. Malbrán, Buenos Aires para un nuevo análisis inmunodiagnóstico.

Se recolectaron plantas de berro y caracoles en los distintos canales, y muestras fecales del ganado que pastaba alrededor de las viviendas.

Muestreo y examen de vegetación: Las plantas de berro (*Rorippa nasturtium-aquaticum*, (L) Hayek), se encontraban como un manchón en una parte del Canal 1, aguas abajo de la vivienda. De allí la paciente indicó que había recolectado ejemplares para su ingestión el verano anterior. Se recolectaron numerosas plantas de berro, que cubrían alrededor de un 20% de la superficie del manchón mencionado. En los otros canales no se observaron ejemplares de esta especie. Las plantas fueron trasladadas al laboratorio con las raíces cubiertas por algodones húmedos para mantenerlas frescas y se observaron bajo microscopio estereoscópico (20x) en busca de metacercarias de *F. hepatica*.

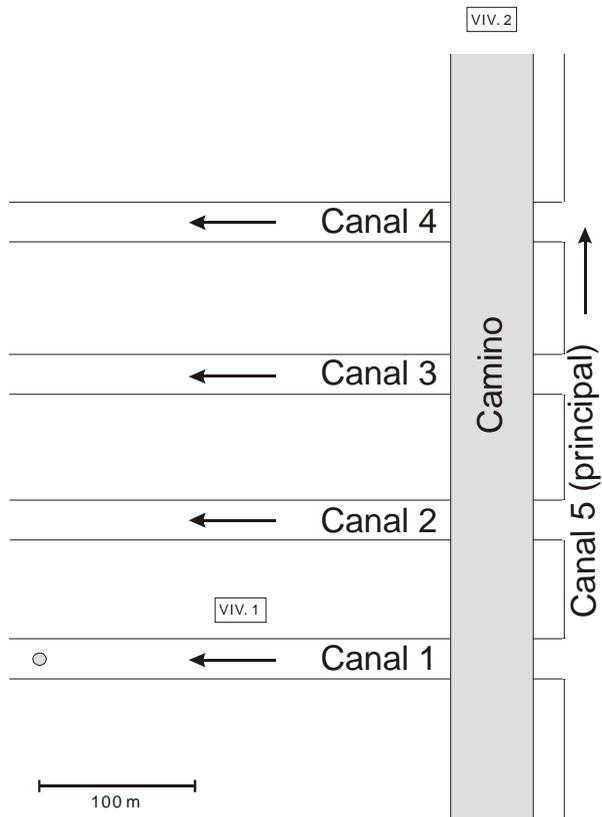


Fig. 1.— Croquis del área de estudio, Loncopué, Neuquén, noviembre 2002. Las flechas indican el sentido de la corriente. El círculo gris indica el sitio de recolección de berro.

Muestreo y examen de caracoles: Se recolectaron caracoles en todos los canales de riego por observación en la superficie o mediante el uso de coladores de mano. Para estimar la abundancia, se utilizó la captura por tiempo, contando el número de ejemplares recolectados durante media hora siempre por el mismo observador. Los caracoles se colocaron entre algodones húmedos dentro de recipientes plásticos y fueron trasladados vivos al laboratorio en Buenos Aires. Fueron identificados en el laboratorio por características de la conchilla y de los órganos internos^{9, 10}. Los especímenes pertenecientes al Género *Lymnaea* fueron medidos antes de su disección desde el ápex hasta el margen anterior de la conchilla utilizando un microscopio estereoscópico (20x) con ocular graduado^{11, 12}.

Los ejemplares vivos de *Lymnaea sp* fueron mantenidos en grupos de 25 individuos en recipientes plásticos translúcidos, con agua de clorinada y alimento balanceado para ratones *ad-libitum*, renovando el agua dos veces por semana. La emisión de cercarias se estudió cada tres días y durante un mes, colocando los caracoles en recipientes individuales y exponiéndolos a una fuente luminosa. Las cercarias se montaron entre cubre y portaobjetos y se observaron en microscopio (400x) para su identificación morfológica. Estos caracoles, al igual que los que se hallaron muertos, se diseccionaron para verificar la infección por *F. hepatica* u otros trematodos.

Muestreo y examen de ganado: La mayor parte de la hacienda, unos 250 vacunos, pertenecía al dueño del establecimiento y pastaba lejos de las casas durante la primavera, y en otros campos durante el resto del año. Los animales que se utilizaban para la economía familiar, vacas (n= 20), cabras (n=15) y ovejas (n=34) pastaban en la proximidad de las viviendas. Todos los animales habían sido desparasitados 6 meses antes del estudio (mes de mayo) con un antiparasitario no específico para *F. hepatica*.

Se recolectaron 35 muestras de materia fecal: 11 de caprinos, 12 de ovinos y 12 de bovinos. Las muestras del ganado ovino y caprino se obtuvieron en el momento de la defecación de cada individuo. En el caso de los bovinos, se utilizó un guante veterinario para la extracción de la materia fecal del recto. Para los fines del presente estudio, los animales se clasificaron como juveniles (menores de 6 meses o lactantes) y adultos. Las muestras se conservaron en recipientes cerrados con formol 5%.

Para la detección de huevos de *F. hepatica* se utilizó un método de tamización, más sensible que el método de sedimentación¹³. Tres gramos de materia fecal de cada muestra se filtraron a través de 3 tamices de 250, 125 y 53 μm de malla (80, 120 y 270 U.S. Standard Size, respectivamente) y 20 cm de diámetro. Después de la filtración, el material retenido fue transferido en su totalidad a una o más cajas de Petri, en donde se lo tiñó con unas gotas de solución de azul de metileno 1%, para diferenciar el material vegetal (azul) de los huevos (amarillos). Para la búsqueda de huevos, se utilizó un microscopio estereoscópico de 20x e iluminación por transmisión. En cada muestra se contaron los huevos observados. Para evitar la contaminación entre muestras, los tamices fueron cuidadosamente lavados antes de su reutilización.

Resultados

Durante la entrevista, la paciente refirió haber ingerido gran cantidad de ensalada de berro recogido en el Canal 1 (Fig. 1).

La muestra serológica de la paciente (noviembre de 2002), resultó positiva para fasciolosis por el test de ELISA

con una A410 de 0.493 (valor de corte = 0.410), mientras que la primera muestra (mayo de 2002) mostró una A410 de 0.701.

No se observaron metacercarias en las 222 hojas de berro con sus respectivos tallos recolectadas en campo.

Se recolectaron 130 caracoles identificados como *Lymnaea viatrix*, además de otros ejemplares pertenecientes a los géneros *Heleobia* (antes *Littoridina*) y *Chilina*. Las capturas por tiempo para *L. viatrix* fueron de 4 y 2 ejemplares en 30 minutos para el Canal 1 (aguas arriba y aguas abajo de la vivienda 1), 2 para el Canal 2, 27 para el Canal 3 y 1 para el Canal 4. En el canal principal (canal 5 en la Fig. 1) no se realizó captura por tiempo.

En la Fig. 2 se presenta la estructura poblacional de los 130 caracoles a fin de estimar la fase de desarrollo poblacional en el momento del muestreo. El largo varió entre 3.3 y 11.1 mm, con una media de 6.9 y un desvío standard de 1.31.

De los 101 caracoles examinados, 2 ejemplares de 8.1 y 8.8 mm del canal 3 se encontraron infectados por *F. hepatica* (2%). Además, en el mismo canal se detectaron 4 caracoles infectados con otros trematodos no transmisible a la población humana ni al ganado, pertenecientes a las familias Echinostomatidae (8.5 mm), Schistosomatidae (6.6 y 8.0 mm) y Diplostomatidae (9.3 mm). No se encontraron caracoles infectados entre los recolectados en otros canales.

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis parasitológico de las muestras de ganado adulto, incluyendo la mediana del número de huevos de *F. hepatica* por gramo (hpg) para los animales positivos. El número de huevos eliminados por las cabras y las ovejas infectadas resultó significativamente más alto que el eliminado por las vacas infectadas (test Mann-Whitney, $p < 0.01$). Entre las ovejas y las cabras, estas últimas eliminaron un mayor número de huevos pero las diferencias no fueron significativas (test Mann-Whitney, $p = 0.09$).

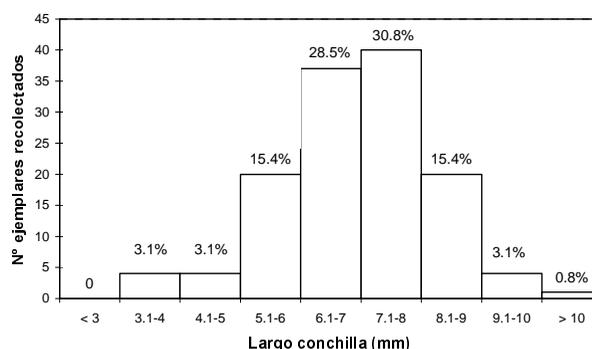


Fig. 2.- Estructura poblacional de *Lymnaea viatrix* (n=130), Loncopué, Neuquén, noviembre 2002. El porcentaje encima de cada barra representa la proporción de caracoles de la muestra incluidos en cada clase de tamaño.

TABLA 1.— Prevalencias y mediana del número de huevos de *Fasciola hepatica* por tipo de ganado para animales adultos, Loncopué, Neuquén, noviembre 2002

Ganado	Positivos/ examinados (%)	Nº huevos en ejemplares positivos Mediana de hpg ^a (Quartil 1-Quartil 3)
Caprino	10/10 (100%)	20.7 (6.2-34.5)
Ovino	9/11 (82%)	4 (1.8-13)
Bovino	6/7 (86%)	0.3 (0.3-1.7)

^ahpg: número de huevos de *F. hepatica* observados por gramo de heces

En la Tabla 1 no se incluyeron los animales juveniles debido a los bajos números de individuos muestreados: un caprino positivo (único examinado, 0.3 huevos/g), un ovino positivo de 2 examinados (1.7 huevos/g) y 5 terneros examinados negativos.

Discusión

El estudio detectó distintas especies involucradas en la transmisión local de *F. hepatica*: ganado caprino, ovino y bovino, *L. viatrix*, *Rorippa nasturtium-aquaticum* (*L.*) *Hayek*. Se encontró al hospedador intermedio infectado y se determinaron altas prevalencias en los hospedadores definitivos que se criaban en los alrededores de la vivienda.

El reducido porcentaje de hospedadores intermedios infectados capaz de mantener prevalencias muy superiores de *F. hepatica* en las poblaciones de hospedadores definitivos es un hecho conocido y nuestros resultados se corresponden con lo hallado en otras regiones de Argentina, América y Europa, en donde la prevalencia de la infección en caracoles se mantiene comúnmente en valores de un dígito, y en menos del 5% para el caso de *L. viatrix*¹⁴⁻²¹. Estos resultados suelen atribuirse a la gran capacidad de multiplicación asexual de *F. hepatica* en el hospedador intermedio: por cada huevo que completa con éxito su ciclo en el caracol, se estima una producción potencial de 4000 metacercarias²².

Con respecto a la ausencia de observaciones de metacercarias en las plantas de berro, algunos autores han demostrado experimentalmente que en ambientes de aguas corrientes como el de este estudio, el porcentaje de metacercarias flotantes que logran fijarse a las plantas de berro y sobrevivir 21 días es muy bajo: 0.7% y 1.5% de las metacercarias liberadas en dos ambientes distintos²³. Estas bajas frecuencias indicarían que para detectar metacercarias en condiciones naturales, la can-

tividad de material vegetal revisado debería ser mayor, lo cual sólo podría haberse llevado a cabo en los meses de verano, es decir más avanzada la estación de crecimiento vegetal. Estos resultados concordarían con lo referido por la paciente en cuanto a su ingesta continuada de berro durante todo el verano anterior a presentarse la fasciolosis sintomática, alentada a esta práctica por su médico dada su condición de embarazo y el alto contenido de hierro de este vegetal.

Las prevalencias en el ganado resultaron más elevadas que las detectadas por otros investigadores en zonas donde la fasciolosis humana es altamente endémica, como el altiplano boliviano, aun cuando en esos trabajos se emplearon técnicas de diagnóstico más sensibles que la tamización, como la necropsia o el diagnóstico serológico^{2, 3, 24, 25}.

La importancia epidemiológica de cada tipo de ganado podría estimarse calculando el número de huevos eliminados por día por cada individuo infectado a partir de la mediana de hpg y la cantidad diaria de heces eliminadas. Si la producción de heces diarias es de 15-35 kg de heces por individuo por día para vacunos, y 1-3 kg de heces para ovinos y caprinos²⁶, se obtiene que mientras un vacuno infectado expulsaría entre 4 500 y 10 500 huevos por día, un ovino eliminaría entre 4 000 y 12 000 huevos y un caprino entre 20 700 y 62 100 huevos diarios. Si se verificaran estos valores, la cantidad de huevos eliminados por las cabras sería muy superior a la del resto del ganado, y posiblemente también su importancia epidemiológica en el área.

La práctica veterinaria local de tratamiento antiparasitario no tuvo efecto aparente sobre la transmisión de la fasciolosis en este caso, por lo que tal vez deberían revisarse los calendarios de tratamiento y los antiparasitarios utilizados en la zona. Nuestros resultados indican además la importancia de incluir en los programas de control de fasciolosis, al ganado criado a pequeña escala por los pobladores como parte de su economía doméstica.

En cuanto a la dinámica temporal de la transmisión, un trabajo realizado en Chile a una latitud próxima a la de nuestro estudio muestra que se recolectaron caracoles durante todo el año, pero la infección larvaria fue detectada entre octubre y febrero, período coincidente con el pico máximo de nuevas infecciones en el ganado¹⁴. Otros estudios realizados a una latitud mayor (localidad de Cholila, Chubut, 42°32'S, 71°34'O) detectaron caracoles infectados a partir del mes de enero y hasta mediados de marzo²⁷.

Teniendo en cuenta que en el área de este estudio la actividad de estos moluscos puede extenderse hasta el mes de mayo, porque luego la temperatura media diaria cae a menos de 10 °C²⁸⁻²⁹, se podría inferir que en la región andino-patagónica el período de transmisión es

más prolongado en las localidades ubicadas a menor latitud. Esto podría relacionarse con las importantes prevalencias en el ganado y con un aumento en la carga de metacercarias en la vegetación a medida que transcurre el verano.

Los estudios realizados sobre la dinámica poblacional del caracol, indican la importancia del segmento poblacional de gran tamaño en la transmisión¹⁵. Los estudios realizados en Chollila mostraron que los caracoles observados con infección natural por *F. hepatica* superaron los 6.7 mm de longitud y siempre eran adultos que habían sobrevivido al período de hibernación¹⁵. En Berón de Astrada (Corrientes, Argentina), la longitud media \pm desvío estándar de los caracoles infectados fue de 7.28 \pm 1.68 mm¹⁶. Por lo tanto, la estructura de la población en cada época del año puede asociarse con el potencial de transmisión del parásito.

En el caso de este estudio, un importante porcentaje de la población presentaba en el mes de noviembre tamaños compatibles con la infección natural por *F. hepatica* para la región, resultado que reafirma la posibilidad de transmisión en épocas del año más tempranas que en otros valles andino patagónicos ubicados a latitudes más altas.

En el caso de este estudio, la paciente presentó serorreactividad para el test de ELISA a los 6 meses de la infección, aunque con una disminución de los valores de absorbancia, mientras que algunos autores mencionan una persistencia de la reactividad sólo hasta los tres meses posteriores a la infección³⁰⁻³¹.

La infección humana por *F. hepatica* parece ser accidental en esta región geográfica de Argentina, y la ingestión de vegetales que se desarrollan en ambientes compartidos por ganado y caracoles constituiría una vía de transmisión relevante. La evaluación de la importancia de esta zoonosis resulta difícil debido a la falta de estudios, la imposibilidad de realizar análisis serológicos localmente y el hecho de que la fasciolosis no sea una enfermedad de denuncia obligatoria.

Dado que un relevamiento serológico ya mencionado (Carnevale, 2003, datos inéditos) realizado en San Luis a partir de un único caso detectó una seroprevalencia de 11%, es posible que este tipo de hallazgos pueda reiterarse en otras regiones del país⁶. Tampoco deberían descartarse otras posibles vías de transmisión de la fasciolosis tales como el agua de bebida o lavado de alimentos dado que, según algunos autores, alrededor del 10% de las metacercarias producidas permanecen flotantes⁴⁻³².

Otro estudio experimental muestra que cerca de la mitad de las metacercarias liberadas en dos ambientes de aguas corrientes cae al fondo y no puede ser recuperado, por lo que asignan mayor importancia a la transmisión por ingestión de metacercarias flotantes con el agua de bebida para los ambientes de aguas estancadas²³.

Agradecimientos: Esta investigación fue realizada con un subsidio de la Fundación A. J. Roemmers. Nuestro agradecimiento para el Director y todo el personal del Hospital José Cuevas de la localidad de Loncopué y el Dr. Malco Elder del Area Epidemiología de la Subsecretaría de Salud de la Provincia del Neuquén, sin cuya colaboración este trabajo no hubiese sido posible. También agradecemos especialmente a la Sra. Alicia Chandia (la paciente) y su familia, por su cooperación desinteresada y su hospitalidad. Un agradecimiento especial para la Dra. Margarita Ostrowski por su valiosa ayuda en la determinación de trematodes.

Bibliografía

1. Rim HJ, Farag HF, Sommani S, Cross JH. Food-borne trematodes: ignored or emerging?. *Parasitol Today* 1994; 10: 207-9.
2. Esteban JG, Flores A, Aguirre C, Strauss W, Angles R, Mas-Coma S. Presence of very high prevalence and intensity of infection with *Fasciola hepatica* among Aymara children from the Northern Bolivian Altiplano. *Acta Trop* 1997; 66: 1-14.
3. Esteban JG, Flores A, Angles R, Strauss W, Aguirre C, Mas-Coma S. A population-based coprological study of human fascioliasis in a hyperendemic area of the Bolivian Altiplano. *Trop Med Int Health* 1997; 2: 695-9.
4. Mas-Coma MS, Esteban JG, Bargues MD. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. *Bull World Health Organ* 1999; 77: 340-6.
5. Petraglia AA. Parasitosis humana por "*Fasciola hepatica*". Primer caso que se describe en el Noreste Argentino. *Act Trab Asoc Arg Enferm Transm* 1954; 3: 47-8.
6. Ale D, Merciai G, Gil Echeverría M. *Fasciola hepatica*. Intensificación de su búsqueda en pacientes con eosinofilia y epidemiología positiva. III Congreso Argentino de Parasitología, 1-4 Nov, 2000, Mar del Plata, Argentina; p 421.
7. Kaczorkiewicz AJ. Distomatosis en la provincia del Neuquén. *Rev Med Vet (Bs. As.)* 1983; 64: 354-6.
8. Carnevale S, Rodríguez MI, Guarnera EA, Carmona C, Tanos T, Angel S. Immunodiagnosis of fasciolosis using recombinant procathepsin L cystein proteinase. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 41: 43-9.
9. Paraense LW. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca: Lymnaeidae). *Rev Brasil Biol* 1976; 36: 419-428.
10. Paraense LW. *Lymnaea diaphana*: A study of topotypic specimens (Pulmonata: Lymnaeidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1984; 9: 75-81.
11. Hubendick B. Recent Lymnaeidae: their morphology, taxonomy nomenclature and distribution. Stockholm: Kungl Svenska Vetenskaps Akademiens Handlingar, Fjärde Serien 1951; Band 3, 1: 1-223.
12. Oviedo JA, Bargues MD, Mas-Coma S. Lymnaeid snails in the human fascioliasis high endemic zone of the Northern Bolivian Altiplano. *Research and Reviews in Parasitology* 1995; 55: 35-43.
13. Kleiman F, Pietrokovsky S, Spatz L, Gil S, Matos ML, Wisnivesky-Colli C. Comparación de la sensibilidad de dos métodos de diagnóstico coprológico para *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea). XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología, 11 a 16 de octubre, 1999, Acapulco, México: 114.
14. Alcaino H, Vega F, Gorman T. Epidemiología de la fascioliasis hepática en la VII Región de Chile. *Parasitol al Día* 1993; 17: 99-106.
15. Kleiman F. *Fasciola hepatica* (Trematoda:Digenea) en

- ganado bovino de los valles cordilleranos patagónicos: factores involucrados en su transmisión. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 2004.
16. Prepelitchi L, Kleiman F, Pietrokovsky S, et al. First report of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae) naturally infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea) in Argentina, 2003. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 98 (7): 889-91.
 17. Castro O, Heinzen T, Carballo M. Dinámica de infección de *Lymnaea viator* con *Fasciola hepatica* en condiciones naturales en Uruguay. *Vet (Montevideo)* 2001; 36 (142): 13-20.
 18. Ueta MT. Ocorrência de infecção natural de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 em *Lymnaea columella* Say, 1817 no vale do Paraíba, SP, Brazil. *Rev Saúde Públ* 1980; 14: 230-3.
 19. Meurier C, Tirard C, Hurtrez-Boussès S, et al. Lack of molluscan host diversity and the transmission of an emerging parasitic disease in Bolivia. *Mol Ecol* 2001; 10: 1133-40.
 20. Kaplan RM, Dame JB, Reddy GR, Courtney CH. The prevalence of *Fasciola hepatica* in its snail intermediate host determined by DNA probe assay. *Int J Parasitol* 1997; 27: 1585-93.
 21. Rondelaud D, Dreyfuss G. Variabilité de l'infestation fasciolienne chez *Lymnaea truncatula* Müller par rapport à la localisation de ses gîtes sur les réseaux hydrographiques. *Bull Soc F Parasitol* 1996; 14: 189-94.
 22. Ollerenshaw CB. The Ecology of liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Vet Rec* 1959; 71 (45): 957-63.
 23. Rondelaud D, Vignoles P, Vareille-Morel C et al. *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: field observations on the transport and outcome of floating meta-cercariae in running water. *J Helminthol* 2004; 78: 173-7.
 24. Buchon P, Cuenca H, Quiton A, Camacho AM, Mas-Coma S. Fascioliasis in cattle in the human high endemic region of the Bolivian Northern Altiplano. *Research and Reviews in Parasitology* 1997; 57: 71-3.
 25. Flores Serna AF, Estévez Martini R. Fascioliasis en la ciudad de La Paz. *Cuad Clin (La Paz)* 1998; 34: 14-8.
 26. Gürtler H, Ketz HA, Kolb E, Schröder L, Seidel H. Fisiología Veterinaria. Zaragoza: Acribia, 1979.
 27. Kleiman F, Prepelitchi L, Wisnivesky C. Estudio de la dinámica poblacional de *Lymnaea viatrix*, hospedador intermediario de *Fasciola hepatica* en el noroeste de Chubut. III Congreso Argentino de Zoonosis, 7 al 10 de agosto, 2001, Buenos Aires, Argentina.
 28. Aziz AM, Raut SK. Thermal Effect on the Life-cycle Parameters of the Medically Important Freshwater Snail Species *Lymnaea (Radix) luteola* (Lamarck). *Mem Inst Oswaldo Cruz* (Rio de Janeiro) 1996; 91: 119-28.
 29. Claxton JR, Sutherst J, Ortiz P, Clarkson MJ. The Effect of Cyclic Temperatures on the Growth of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea viatrix*. *Vet J* 1999; 157: 166-71.
 30. Espino AM, Díaz A, Pérez A, Finlay C. Dynamics of Antigenemia and Coproantigens during Human *Fasciola hepatica* Outbreak. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2723-6.
 31. Hillyer GV. Immunodiagnosis of human and animal fasciolosis. In: Dalton JP (ed). Fasciolosis. Wallingford: CAB International Publishing, 1998. p 435-47.
 32. Vareille-Morel V, Dreyfuss G, Rondelaud D. Premières données sur la dispersion et le devenir des métacercaires flotantes de *Fasciola hepática* L. *Bull Soc Fr Parasitol* 1993; 11: 63-9.

Frenzied activity has become a fetish of modern scientists, many of whom speak proudly of sixteen-hour days, schedules honored to the minute, and more travel than that of Alfred Nobel himself. But frenzy is the enemy of reflection, and reflection is central to discovery. Time and tranquility permit the intellectual synthesis and leaps of imagination that generate insight.

La actividad frenética se ha convertido en un fetiche de los investigadores modernos. Tienen la manía de desplegar una actividad febril; muchos de ellos hablan con orgullo de jornadas de dieciséis horas con agendas afinadas al minuto, y de más viajes que el propio Alfred Nobel. Pero el frenesí es el enemigo de la reflexión y la reflexión es esencial para el descubrimiento. Tiempo y tranquilidad permiten una síntesis intelectual y saltos de la imaginación que generan una profunda percepción.

J. Michael Bishop

How to win the Nobel Prize: An unexpected life in Science. Cambridge MA: Harvard University Press, 2003, p 58