

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

Memoria de la práctica dirigida presentada a la Escuela
de Biología como requisito para optar al grado de Licenciado
en Biología con énfasis en Genética

Dic. Hernán Céspedes
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Director de la Práctica

INFECCION EXPERIMENTAL DE PHYSA FALIGINEA MORELET, 1851

(GASTROPODA: PHYSIDAE) CON ANGIOSTRONGYLUS COSTARICENSIS

MORERA Y CESPEDES, 1971

(NEMATODA: ANGIOSTRONGYLIDAE)

M.S. Carlos Valerio
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Miembro del Tribunal

Dr. Carlos Valerio
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Jorge Arturo Osejo Villegas

Sustentante

Jorge Arturo Osejo Villegas

MEMORIA DE LA PRACTICA DIRIGIDA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN BIOLOGIA CON ENFASIS EN GENETICA

"CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO"

1 9 8 6

INFECCION EXPERIMENTAL DE PHYSA FALIGINEA, MORELET,
(GASTROPODA: PHYSIDAE) CON ANGIOSTRONGYLUS COSTARICENSIS,
MORERA Y CESPEDES, 1971 (NEMATODA: ANGIOSTRONGYLIDAE)

Memoria de la práctica dirigida presentada a la Escuela
de Biología como requisito para optar al grado de Licenciado
en Biología con énfasis en Genética.

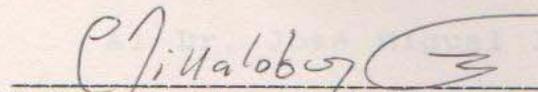
Lic. Hernán Camacho V.
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Director de la Práctica



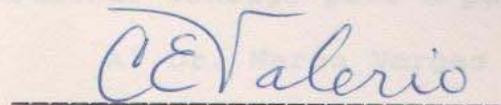
Dr. José Miguel Jiménez S.
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Miembro del Tribunal



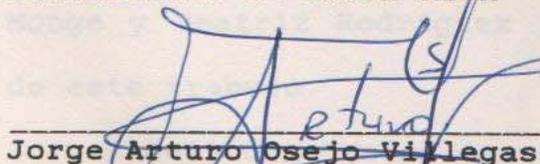
M.S.c. Carlos Villalobos S.
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Miembro del Tribunal



Dr. Carlos Valerio
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Miembro del Tribunal



Jorge Arturo Osejo Villegas

Sustentante

Agradecimiento

Quiero expresar mi gratitud al Lic. Hernán Camacho y al Dr. Pedro Morera por sus sugerencias durante la elaboración del manuscrito.

Al Dr. Carlos Valerio, quien, con su crítica objetiva facilitó mi camino.

Al M.Sc. Carlos Villalobos por la revisión del manuscrito y por el gran apoyo, que me brindó en momentos críticos y que hizo posible la defensa oral y la presentación final del trabajo escrito.

Al Dr. José Miguel Jiménez, excelente persona, que además de amistad, me brindó sabio consejo. Gracias por caminar conmigo paso a paso.

Al Dr. Mario Vargas Vargas por sus valiosas sugerencias y estímulo constante; a los doctores Rodrigo Brenes, Eduardo Monge y Beatriz Rodríguez por su asesoría en la realización de este trabajo.

A Guillermo Medaglia, Guillermo Muñoz y Ma Teresa Torres por su desinteresada colaboración.

Al personal administrativo de la Escuela de Biología, quienes me enseñaron todo lo bueno de la palabra amistad.

CONTENIDO

PAGINA

- INTRODUCCION	1-11
- MATERIAL Y METODOS	12-14
- RESULTADOS	15-16
- CUADROS	17-20
- FIGURAS	21-23
- DISCUSION	24-26
CONCLUSIONES	27-28
RESUMEN	29
BIBLIOGRAFIA	30-31
APENDICE	32-33

DEDICATORIA

A mi esposa, mi madre y
mi hijo

INTRODUCCION

CONTENIDO

Los miembros de la super familia Metacoeloceroidea son un grupo de organismos de importancia médica y zoológica. Muchos de sus miembros son patógenos importantes de animales domésticos y salvajes. Según Anderson (1974) consta de siete familias: Metacoeloceridae, Pseudocoeloceridae, Procoeloceridae, Oroscoeloceridae, Pseudocoeloceridae y Anacoeloceridae. La cual

	PAGINA
- INTRODUCCION	1-11
- MATERIAL Y METODOS	12-18
- RESULTADOS	19-40
- CUADROS	24-36
- FIGURAS	37-39
- DISCUSION	40-54
CONCLUSIONES	55-56
RESUMEN	57
BIBLIOGRAFIA	58-63
APENDICE	64-68

- 1. *Metacoeloceros*
- 2. *Procoeloceros*
- 3. *Oroscoeloceros*
- 4. *Pseudocoeloceros*
- 5. *Anacoeloceros*

Esta clasificación ha sido reorganizada en varias ocasiones a causa de la gran controversia existente en su taxonomía. Dougherty (1964) fue el primero en proponer una combinación de especies, luego lo hizo Schulz (1961)

INTRODUCCION

Los nemátodos de la super familia Metastrongiloidea son un grupo de organismos de importancia médica y económica. Muchas de sus especies son patógenos importantes de animales domésticos y del hombre. Según Anderson (1978) consta de siete familias: Metastrongylidae, Skrjabingylidae, Protostrongylidae, Crenosomatidae, Pseudaliidae, Filaroididae y Angiostrongylidae, la cual posee 16 géneros.

El género, Angiostrongylus Kamenskii, 1905, perteneciente a esta familia consta, según Bahibulaya (1979), de 19 especies:

<u>A. vasorum</u>	<u>A. tateronae</u>
<u>A. ondatrae</u>	<u>A. cantonensis</u>
<u>A. gubernaculatus</u>	<u>A. soricis</u>
<u>A. blarini</u>	<u>A. ten</u>
<u>A. chabaudi</u>	<u>A. sciuri</u>
<u>A. michiganensis</u>	<u>A. sandersae</u>
<u>A. mackerrasae</u>	<u>A. dujardini</u>
<u>A. schmidti</u>	<u>A. malaysiensis</u>
<u>A. costaricensis</u>	<u>A. minutus</u>
<u>A. siamensis.</u>	

Esta clasificación ha sido reorganizada en varias ocasiones a causa de la gran controversia existente en su taxonomía: Dougherty (1964) fue el primero en ensayar una combinación de especies, luego lo hicieron Schulz. (1951)

basado en la presencia o ausencia de gubernáculo y en el tamaño de las espículas y posteriormente Skrjabin *et al.* (1952) y Ash (1967). Drözd (1970), los clasificó, tomando en cuenta las características de los rayos laterales y dorsales de la bolsa copulatriz (Bahibulaya, 1979). En 1972, Chabaud incluye algunos aspectos evolutivos del parásito, su tipo de huésped y habitat y reorganiza de nuevo los Angiostrongylidae en ocho géneros distintos; revalida los géneros Parastrongylus y Rodentocaulus; conserva el género Angiostrongylus donde mantiene a A. cantonensis y establece el género Morerastrongylus donde coloca como especie tipo M. costaricensis, nueva combinación de A. costaricensis. Posteriormente Mas-Coma (1977) confirma la propuesta de Chabaud.

Anderson (1978) reconsidera el género Angiostrongylus con dos subgéneros: A. Angiostrongylus y A. Parastrongylus (= Morerastrongylus = Pulmonema = Rattostrongylus). En 1984, Oku *et al.*, mediante experimentos de hibridización confirman que A. costaricensis y A. siamensis son especies válidas y distintas.

Portes Santos (1985), hace referencia a la insuficiencia de las características morfológicas utilizadas en la descripción de nuevas especies de la familia y mantiene los subgéneros Parastrongylus y Angiostrongylus siguiendo la clasificación de Drözd (1970) revalidada por Anderson (1978).

De las especies mencionadas únicamente tres causan alguna patología en el hombre. A. cantonensis agente etiológico de la meningoencefalitis eosinofílica (Alicata, 1964), A. malaysiensis, que produce la misma patología (Lim y Ramachandran, 1979) y A. costaricensis, causante de la angiostrongilosis abdominal (Morera y Céspedes, 1971).

A. costaricensis reviste especial importancia para nosotros, por la alta incidencia de esta parasitosis en Costa Rica, con una prevalencia de alrededor de 12 casos por cada 10,000 habitantes (Morera, 1984). Además de que está ampliamente distribuido en el continente americano desde el sur de los Estados Unidos hasta Brazil. Además de Costa Rica, donde hay informados numerosos casos humanos (Morera, 1967; Robles et al., 1968; Loría y Lobo, 1980), se ha informado de casos en Honduras (Sierra y Morera, 1972), Brazil (Zilioto, 1975; Iabuki y Montenegro, 1979; Magalhães et al., 1983), México (Zavala, 1974) y Venezuela (Zambrano, 1971) entre otros.

El padecimiento en el hombre se caracteriza por presentar una sintomatología similar a la de un cuadro de abdomen agudo. Las principales características son dolor localizado en la fosa ilíaca derecha, fiebre de duración e intensidad importante, anorexia y vómitos. La exploración física revela la presencia de una masa o plastrón intra-abdominal. Los hallazgos de laboratorio más importantes son la leucocitosis y la eosinofilia (Morera y Céspedes, 1971).

El ciclo de vida de estos parásitos es de tipo indirecto; esto es, requiere de dos hospederos: un hospedero intermediario en donde se encuentran las formas larvales y uno definitivo, generalmente un roedor, donde se desarrolla la forma adulta del parásito. El hospedero definitivo adquiere la infección por larvas de tercer estadio (L₃), por vía oral, que pasan por el estómago y llegan a la región ileocecal, donde atraviesan la pared intestinal. Un día después, se localizan en vasos linfáticos de la cavidad abdominal, sobre todo en los de la pared intestinal y mesenterio. Ahí, mudan dos veces antes de dar lugar a adultos jóvenes que migran y alcanzan su madurez en su habitat definitivo: las arterias mesentéricas de la región ileocecal. Las hembras ovipositan alrededor del día 18 y los huevecillos, que son arrastrados por la corriente sanguínea, quedan atrapados en la arteriolas de menor calibre, en donde se desarrollan larvas de primer estadio, las cuales atraviezan la mucosa intestinal y salen en las heces del roedor al día 24. Los moluscos hospederos intermediarios, se infectan al ingerir heces de roedor contaminadas con larvas de primer estadio (L₁); dentro del molusco, la L₁ se inmoviliza, comienza a aumentar de tamaño y a tener una apariencia granulosa. Entre el tercer y cuarto día después de la infección ocurre la primer muda, teniéndose entonces larvas de segundo estadio (L₂) que miden alrededor de 370 micras de largo y 20 de ancho, en esta fase se encuentran gránulos, que impiden la

observación de las estructuras internas, pero se observa una cubierta que corresponde a la primer muda. La segunda muda aparece entre el decimoprimer y el decimocuarto días; llegando a estar completamente maduras entre los días 16 y 19. En esta etapa miden 460 micras de longitud, los granulos han desaparecido y aún conservan dos cubiertas. Las larvas infectantes son capaces de vivir por largo tiempo en el hospedero intermediario y alcanzan el hospedero definitivo, ya sea mediante salida espontánea vía secreción mucosa o mediante la ingestión del hospedero que las contiene. Morfológicamente, los parásitos adultos se caracterizan por tener un cuerpo filiforme cuya extremidad caudal se encuentra curvada en ambos sexos. La cutícula es lisa excepto hacia los extremos donde se engrosa y se presenta finamente estriada. El poro excretor se localiza ligeramente posterior a la unión esófago-intestinal; existen marcadas diferencias entre el macho y la hembra de éste parásito (Morera 1973).

La distribución de los hospederos definitivos naturalmente infectados es amplia. En Costa Rica, Morera informó en 1970 sobre Sigmodon hispidus (Rodentia: Cricetidae) y Rattus rattus (Rodentia: Muridae); 3 años más tarde, Tesh et al., haciendo un estudio en Panamá, determinaron que Lyomys adspersus (Rodentia: Heteromyidae), Oryzomys fulvescens y Zygodontomys microtinus (Rodentia: Cricetidae) estaban naturalmente infectadas. Monge, en 1978, agrega a la lista a Nasua narica bulata (pizote) (Carnivora: Procyonidae) y Malek en el mismo año

incluye a Oryzomys caliginosus (Rodentia: Cricetidae) procedentes de Colombia. En 1982, Sly et al. informan del hallazgo de dos marmosetas (Saguinus mystax) (Primates: Callithricidae) procedentes del Perú que portaban granulomas asociados a la presencia de larvas y huevecillos del parásito. Morera, en 1984, complementa esta lista, con las siguientes especies: Peromyscus nudipes, Tylomys watsoni, Oryzomys albigularis (Rodentia: Cricetidae), Rattus norvegicus (Rodentia: Muridae), Liomys salvini (Rodentia: Heteromyidae) y Proechimys semispinosus (Rodentia: Echymidae).

Entre los hospederos intermediarios naturalmente infectados, se han mencionado a Vaginulus plebeius (Gastropoda: Veronicellidae) (Morera, 1970), Helisoma trivolvis (Gastropoda: Planorbidae) (Camacho, 1979) y a la planaria Geoplana sp. (Turbellaria: Planariidae) (Conejo, 1985). Pero experimentalmente se han infectado a Helisoma trivolvis (Camacho, 1979), Biomphalaria straminea (Camacho, 1986, com. pers.), B. glabrata (Gastropoda: Planorbidae) (Ubelaker et al., 1980), Lymnaea sp. (Gastropoda: Lymnaeidae) (Hernández, 1986) y a Pomacea flagellata (Gastropoda: Ampulariidae) (Briceño, 1986).

La amplia distribución de los físidos (Gastropoda: Physidae) en los ambientes dulceacuáticos de Costa Rica justifica el estudio de su eventual participación como hospederos intermediarios del ciclo de vida de A. costaricensis.

La familia Physidae incluye caracoles pulmonados de concha delgada y espiralada, levógira, lisa o con estrias microscópicas transversas, brillante u opaca y la espira puede ser alargada o muy corta. El animal tiene tentáculos largos delgados, y cilíndricos; el pie es angosto y aguzado en la parte posterior; no tiene pseudobranquia; con el margen interno del manto liso o digitado, extendiéndose sobre la concha. La rádula tiene hileras de dientes en forma de V; el diente central es multicúspide y los laterales y marginales se hallan encorvados en forma oblicua dando la apariencia de un peine multicúspide con un proceso en su ángulo externo (Malek, 1962).

Los físidos muestran una distribución cosmopolita; se encuentran en América, Europa, Asia, en el este de India, y en algunas partes de Africa y Australia (Malek, 1962).

En América solo hay dos géneros de esta familia: Physa y Aplexa. Se diferencian porque el primero tiene la concha menos alargada, con la espira corporal o principal más ancha e inflada, lisa o con estrias macro o microscópicas; el borde interno del manto es usualmente digitado y se extiende sobre la porción columelar, mientras que el segundo tiene una concha alargada, delgada, lisa con el borde del manto simple, no digitado (Malek, 1962). Los individuos del género Physa presentan una amplia distribución en Costa Rica habitando ambientes lóticos y lénticos de poca corriente (Camacho 1986, com. pers.), que van desde ríos, lagunas, charcos hasta fuentes en parques e iglesias.

La literatura acerca del género Physa para nuestro país es muy escasa. Biolley (1897) informa que en la Meseta Central de Costa Rica hay 4 especies: Physa aurantia Carp. (especie más común), P. fuliginosa Mor, P. cistermina Mor. y P. polakowskii Cless. Brenes y Coto (1968) colectando moluscos en la misma zona, reportan a la especie Physa heterostropha.

La falta de identificación de las especies del género Physa en Costa Rica, ha afectado el establecimiento del papel que estos moluscos puedan tener como hospederos intermediarios de parásitos de animales incluyendo al hombre (Monge-Nájera, 1984). Sin embargo, en otras localidades, en las que estas especies están bien identificadas, este papel sí está bien establecido por ejemplo, Physa gyrina es el hospedero intermediario de Gigantobilharzia buronesis que parasita aves en Michigan, E.U.A., de Posthodiplostomum minimum que parasita garzas; de Fibricola critera que parasita mapaches; de Heronimus chelydra que parasita tortugas y el de los plagiórquidos de culebras: Lechiorchis tygarti, L. primus, Zeugorchis syntomentera y de Z. euvinus. Physa parkeri es el huésped intermediario de Trichobilharzia physellae que parasita patos en Norte América (la cercaria de este tremátodo produce dermatitis en el hombre); el hemiurido Halipegus occidentalis que parasita ranas y del monostomátido Notocotylus urbanesis que parasita patos salvajes y domésticos. Physa integra es el hospedero del plagiórquido Pneumatophilus variabilis, del telórquido

Telorchis medius y del equinostomátido Echinoparyphium flexum. Tanto P. gyrina como P. integra son hospederos del espirórquido Vasotrema robustum y del monostomátido Notocotylus urbanesis. Physa heterostropha es el hospedero intermediario del diplostómido Posthodiplostomum minimum y de Lechiorchis tygarti. Physa occidentalis es el primer y segundo hospedero intermediario de Echinostoma revolutum. Finalmente, Physa anatina, es hospedero intermediario de Trichobilharzia physellae (Malek, 1962).

En Costa Rica, Tonn et al. (1964) informan sobre la presencia de xifidiocercarias y de gimnocefalocercarias en Physa polakouskii, cuando realizaron un estudio de la variación estacional mensual de dichas cercarias.

Richards y Merrit (1967) estudiaron la susceptibilidad de varias especies de moluscos de agua dulce a la infección con A. cantonensis. Trabajaron con un total de 26 especies, 20 de las cuales produjeron larvas infectantes (L₃), 3 no se infectaron y en 3 se encontraron únicamente larvas de primer estadio. Dentro de las especies utilizadas se encontraban 2 del género Physa, una proveniente de Estados Unidos y la otra de Hawaii. La primera se caracterizó por ser un "aceptable" hospedero intermediario, produciendo larvas infectantes; la segunda no produjo L₃, pero se encontraron larvas de primer estadio en sus tejidos. Esto sugiere sin lugar a dudas que no todas las especies del género Physa pueden ser hospederos intermediarios experimentales de A. cantonensis. P. acuta es otra de las

especies infectadas en el laboratorio por éste parásito (Otsuru, 1979).

En este trabajo se informa por primera vez, sobre la presencia abundante de P. faliginea Morelet (1851), en los estanques de acuacultura de la Estación Experimental Fabio Baudrit, ubicada en Alajuela, Costa Rica. Lo anterior podría sugerir, una distribución más amplia de este molusco en nuestro país; este hecho y la eventual susceptibilidad a la infección con A. costaricensis observada en esta especie, en conjunto, podrían representar un peligro potencial para la salud pública. En esto radica la importancia del presente estudio.

1. Determinar si existe diferencia en la susceptibilidad a la infección en caracoles de diferente tamaño utilizando dosis y tiempos de exposición constantes.
2. Comprobar si existe liberación natural de estadios larvales de caracoles infectados.
3. Determinar la ubicación final de las larvas en el caracol y establecer la posible existencia de una respuesta celular del molusco al parásito.

OBJETIVOS

1. Determinar si P. faliginea (Gastropoda: Physidae) es susceptible a la infección por L₁ de Angiostrongylus costaricensis (Nematoda: Angiostrongylidae).
2. Examinar el grado de infección del molusco exponiéndolo a diferentes cantidades de L₁, durante un periodo constante.
3. Establecer el grado de infección del caracol variando los tiempos de exposición a las L₁, a una dosis constante.
4. Determinar si existe diferencia en la susceptibilidad a la infección en caracoles de diferente tamaño, utilizando dosis y tiempo de exposición constantes.
5. Comprobar si existe liberación natural de estadios larvales de caracoles infectados.
6. Determinar la ubicación final de las larvas en el caracol y establecer la posible existencia de una respuesta celular del molusco al parásito.

MATERIAL Y METODOS

Caracoles

Los caracoles utilizados fueron recolectados con red de mano en los Estanques de la Estación Experimental Fabio Baudrit de la Universidad de Costa Rica ubicada en el distrito 2 cantón Central de Alajuela, 840 m.s.n.m. (10° 01' longitud norte a 84° 16' latitud oeste). Fueron trasladados a los laboratorios de Helmintología de la Universidad de Costa Rica, donde se colocaron en recipientes plásticos grandes (30 litros), previamente acondicionados, tratando de imitar al máximo las condiciones ambientales de los estanques (vegetación, tierra en el fondo, aereación, etc.).

Obtención de L₁

Las larvas de primer estadio (L₁) de A. costaricensis se obtuvieron mediante el método descrito por Baermann (1917) a partir de heces de la cepa de la rata algodónera (Sigmodon hispidus) (Rodentia: Cricetidae) que había sido previamente infectada y que es mantenida en el bioterio del laboratorio de Parasitología de la Cátedra de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Costa Rica que funciona en el Hospital San Juan de Dios.

Las L₁ se recogieron en beakers de 50 ml y se pasaron a tubos de ensayo con agua pura.

Conteo de L₁

Para el conteo de L₁ se siguió la siguiente metodología:

- a. Se agitó el tubo de ensayo cerrado (con papel parafilm) logrando una distribución homogénea de las larvas en el líquido.
- b. Se tomaron 8 muestras de 15 microlitros cada una mediante una micropipeta digital de alta precisión, ámbito 10-100 ul, modelo RTM 880/B.
- c. Se montó cada muestra entre cubre y portaobjetos y se contó el número de larvas con ayuda de un contador manual.
- d. Se calculó el promedio de L₁ en las 8 muestras y el volumen que contendría el número de larvas requerido para cada experimento.

Antes de realizar cada exposición, los caracoles a utilizar se aislaron y se mantuvieron en ayunas por 24 horas. Se utilizó un total de 583 caracoles a los que se les midió: longitud total, ancho de la espira corporal, longitud y ancho de la abertura (Foin y Steven, 1970), con la ayuda de un calibrador pie de rey.

Demostración de susceptibilidad de *P. faliginea* a la infección con *A. costaricensis*

Para demostrar la susceptibilidad a la infección de *P. faliginea*, se dispuso de placas de Petri acondicionadas de

tal manera que pudiese mantenerse un medio óptimo para la infección del caracol, en donde el oxígeno no fuese un factor limitante, mediante la adaptación a la placa de una manguera terminada en una aguja hipodérmica, que unida a una bomba de 2.5 watts oxigenaba el medio.

Se utilizaron 3 réplicas y un control; cada réplica constó de una placa de Petri, con 15 caracoles y 6000 L₁ (400 por caracol, medidas volumétricamente como ya se especificó), suspendidas en 10 cc. de agua declorinada. Veinticuatro horas después, los caracoles se trasladaron a frascos de cristal de 2 galones llenos de agua, con aereación, plantas de elodea (Anachardis sp.), algas y tiza como fuente de carbonato de calcio. Los recipientes se mantenían cerrados mediante mallas de nylon de 15 x 15 cm. Los caracoles eran alimentados diariamente con lechuga y germen de trigo.

Se sacrificaron pares de individuos a los 2, 4, 9, 12, 14, 16, 18 y 24 días post exposición, con el fin de determinar la susceptibilidad al parásito y el desarrollo larval dentro del caracol. Cada ejemplar fue procesado mediante la técnica de Wallace y Rosen (1969), que consiste en extraer el cuerpo del molusco y cortarlo en trocitos con una tijera, para luego exponerlo al jugo gástrico artificial (solución con 5g de pepsina y 7 ml de HCl en 1000 ml de agua), durante 2 horas a 37°C. Posteriormente el digerido se trasladó a un aparato de Baermann (1917). A las 3 o 4 horas, se recogieron 10cc. del embudo y se analizaron en una placa de

Petri cuadriculada (cuadros de 0.5 cm), con la ayuda de un estereoscopio. De las larvas recuperadas se aislaron 10 al azar y en todos los casos se midieron algunos de los caracteres según son utilizados por Morera (1973) para determinar estadios larvales.

Cincuenta y ocho larvas con apariencia de L₃ y con movimiento activo, producto de la digestión del día 24, se administraron oralmente mediante sonda gástrica a una rata algodónera.

Relación entre el grado de infección del hospedero intermediario y densidad larval

Para un segundo ensayo, se utilizaron 200, 400, 600 y 800 L₁ por caracol por 24 horas con el fin de determinar si existía alguna relación entre el grado de infección y la densidad de larvas expuestas. Cada una de las 4 dosis se estudiaron en 3 grupos de 15 caracoles (45 en total); además, un grupo testigo, con 45, con el fin de determinar una posible infección natural y de comparar las tasas de mortalidad. Diariamente, se observaban los frascos buscando caracoles muertos, median, se anotaba el día de muerte y se procesaban en la técnica antes descrita, con la finalidad de anotar el número total de larvas hallado. Los caracoles sobrevivientes fueron sacrificados y estudiados en la misma forma el día 24 post exposición.

Relación entre el grado de infección del hospedero intermediario y el tiempo de exposición

Se variaron también los tiempos de exposición de los caracoles a las larvas, manteniendo constante la dosis (400 L₁ por caracol). Los moluscos se expusieron durante 24, 48 y 72 horas. Para cada tiempo, se utilizaron 3 grupos de 15 caracoles y un grupo testigo de 45, que se mantuvieron y estudiaron de igual forma que los del objetivo anterior.

Relación entre el grado de infección del hospedero intermediario y su tamaño

Para determinar la relación entre la infección y el tamaño del caracol se estudiaron 2 grupos de 60 individuos cada uno (con sus respectivos testigos). Los tamaños oscilaban entre 5.5-8.5 mm para un grupo y 10.0-13.5 mm para el otro, y se les expuso a 400 L₁/caracol durante 24 horas. Los caracoles se mantuvieron en las mismas condiciones de los ensayos anteriores y se estudiaron en igual forma.

Determinación de la liberación de estadios larvales del caracol

Con el propósito de determinar si se liberaban en forma espontánea L₃ de los caracoles infectados, se colocaron durante 7 días y en forma individual, 9 moluscos (que 24 días antes habían sido expuestos a una dosis de 400 L₁/caracol durante 24 horas), en 9 embudos con agua declorinada y alimento (técnica Baermann). Diariamente se extraían 10 cc.

de agua y se analizaban al microscopio estereoscópico en busca de estadios larvales.

El porcentaje de liberación espontánea para cada espécimen, se calculó al dividir el número total de larvas activas liberadas espontáneamente, entre el número total de larvas activas encontrado en el caracol y multiplicarlo por 100.

Al día 31 post exposición los nueve especímenes fueron procesados de igual forma que los anteriores, en este caso se determinó el número de larvas inactivas y el número de larvas activas.

Ubicación final de las L₃ en *P. faliginea* y su posible reacción celular

Para establecer la ubicación final de las larvas en el caracol y determinar si existe una respuesta celular de éste, se anestesiaron con mentol 10 moluscos, expuestos 24 días antes a 1000 L1/caracol durante 24 horas, con el fin de relajar los tejidos suaves del pie y de otros órganos. Posteriormente, fueron fijados en formalina al 10%, deshidratados e incluidos en parafina. Se realizaron cortes de 5 micras al micrótopo tiñéndolos con Hematoxilina-eosina. Las preparaciones fueron observadas y analizadas al microscopio de luz.

Análisis de datos

Todos los datos fueron codificados y analizados por computadora (CANDE) utilizando el paquete estadístico SPSS en su versión ANDEVA "one way".

Para su análisis, éstos fueron divididos en dos grupos: grupo A en el cual se utilizaban absolutamente todos los caracoles, es decir, individuos muertos entre los días 1 y 23 y los sobrevivientes que se sacrificaban el día 24 y el grupo A_1 en el cual se procesaban únicamente los caracoles sobrevivientes sacrificados el día 24 post exposición. Nótese que A_1 es un subgrupo de A.

No se encontró ningún testigo infectado naturalmente. Altas tasas de mortalidad fueron observadas en todos los ensayos, y variaron entre 53.3% (la mínima) y 83.3% (la máxima) (cuadros 5, 6 y 7). Se reconoció una mortalidad diferencial entre los individuos de menor tamaño (5.5-6.5 mm) y los de mayor tamaño (10.0-13.5 mm) de 46.0 y 83.3% respectivamente. Lo mismo se apreció para los testigos (cuadro 7).

La longitud promedio del crecimiento de las larvas dentro del caracol, varió desde 245.7 micras en el día 3 (en el que se iniciaron las activas) hasta 434.7 micras en el día 24 (cuadro 8). Entre los días 3 y 4 no hubo un aumento considerable en el tamaño ni en las larvas muertas. El día 4 post infección se encontró una sola larva con la primera

RESULTADOS

En el cuadro 1, se observa que de un total de 44 especímenes analizados, 43 se infectaron (97.7%). El porcentaje de individuos infectados experimentalmente osciló entre el 84.4 y el 100% (cuadros 2,3, y 4). Al variar la dosis (cuadro 2) se observó porcentajes de 84.4 con 200 L₁ como mínimo y del 100% con 800 L₁ como máximo. Al exponer los caracoles a diferentes tiempos (cuadro 3), la tasa de infección osciló entre 95.4 y 100%. Los individuos de menor tamaño se infectaron en un 91.1% mientras que los de mayor tamaño, en un 88.1% (cuadro 4).

No se encontró ningún testigo infectado naturalmente.

Altas tasas de mortalidad fueron observadas en todos los ensayos, y variaron entre 33.3% (la mínima) y 83.3% (la máxima) (cuadros 5,6,y 7). Se reconoció una mortalidad diferencial entre los individuos de menor tamaño (5.5-8.5 mm) y los de mayor tamaño (10.0-13.5 mm) de 46.0 y 83.3% respectivamente. Lo mismo se apreció para los testigos (cuadro 7).

La longitud promedio del crecimiento de las larvas dentro del caracol, varió desde 245.7 micras en el día 0 (en el que se midieron L₁ activas) hasta 454.3 micras, en el día 24 (cuadro 8). Entre los días 0 y 4 no hubo un aumento considerable en el tamaño ni en las demás medidas. El día 4 post infección se encontró una sola larva con la primera

muda. Durante los días 9, 14, 16 y 18 se encontraron larvas con medidas muy distintas entre si y mezcladas (ejemplo = long: 242, 271, 281, 312, 381 micras).

Las larvas encontradas el día 9, presentaron en su gran mayoría una muda (long. \bar{X} = 311 micras); ese mismo día, curiosamente, se obtuvieron de un caracol larvas móviles que resultaron ser L_1 . Los días 14 y 16 post infección se observaron larvas con 2 mudas con longitudes promedio de 371.7 y 384 micras respectivamente. Finalmente se obtuvieron larvas activas a los 18 y 24 días, con promedios de 379 micras de longitud para el primero y de 454.3 micras para el segundo. Se reconocen dos periodos de crecimiento activo; el primero entre los días 4 y 14 (de 248.4 a 371 micras) y el segundo entre los días 18 y 24 (de 379 a 454.3 micras) (cuadro 8).

De las 58 larvas administradas a un ejemplar de S. hispidus se aislaron de las arterias mesentéricas un total de 17 adultos de A. costaricensis 11 hembras y 6 machos.

El cuadro 9 muestra el promedio de larvas encontradas cuando se usaron diferentes dosis de exposición. El grupo A presentó los siguientes promedios: dosis de 200 L_1 = 13.6 \pm 20.3; dosis de 400 L_1 = 26.9 \pm 31.0; dosis de 600 L_1 = 44.5 \pm 42.6 y dosis de 800 L_1 = 62.1 \pm 59.7. Existen diferencias altamente significativas entre estos promedios ($p < 0.01$). Las pruebas de homogeneidad de varianza realizadas complementaron esta información, demostrando que no existían diferencias entre el tratamiento de 200 y 400 L_1

(homogéneas), pero que sí las había entre los tratamientos de 200 y 600 L₁, de 200 y 800 L₁, de 400 y 600 L₁ y de 400 y 800 L₁ (heterogéneas); sin embargo, tampoco existió diferencia significativa entre el grupo de 600 y el de 800 (homogéneas). Se notó una relación proporcional creciente entre el promedio de larvas obtenido y la dosis de exposición (figura 1). El número máximo de larvas fue de 225 a una dosis de 800 L₁/caracol (cuadro 9).

Las dosis del grupo A₁ (únicamente los caracoles sacrificados el día 24) presentan promedios de larvas obtenidas muy diferentes a los de las dosis del grupo A: dosis de 200 L₁ = 41.3 ± 34.6; dosis de 400 L₁ = 50.1 ± 36.6; dosis de 600 L₁ = 67.1 ± 50.4 y dosis de 800 L₁ = 93.9 ± 59.0. Existieron diferencias significativas (p<0.05) entre estos promedios. Las pruebas de homogeneidad de varianzas, demostraron que no existieron diferencias significativas entre los promedios de 200, 400, 600 L₁ (homogéneas), ni entre los promedios de 800 y 600 L₁, pero sí entre los promedios de 200 y 800 L₁, y el de 400 y 800 L₁ (heterogéneas) (Apéndice 2). Se notó al igual que en el caso anterior, una relación proporcional creciente entre el número promedio de larvas obtenido y la dosis de exposición (figura 1). El número máximo de larvas obtenido fue de 225 a una dosis de 800 L₁/caracol (cuadro 9).

Los promedios de larvas que se obtuvieron al variar el tiempo de exposición con dosis constante de 400 L₁, para el grupo A (cuadro 10), fueron los siguientes: 24 horas = 34.2

± 33.8 ; 48 horas = 44.2 ± 28.5 y de 72 horas = 23.0 ± 25.5 . Existieron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre estos promedios; pruebas de homogeneidad de varianzas complementaron esta información, demostrando que no existían diferencias significativas entre el promedio de 72 y el de 24 horas, ni entre el de 24 y 48 horas (homogéneas), pero sí existían entre el promedio de 48 y 72 horas (heterogéneas). El número máximo de larvas encontrado fue de 149, obtenido a las 24 horas de exposición (cuadro 10).

Al analizar los individuos sacrificados al día 24 (cuadro 10), se observaron promedios diferentes a los que se obtuvieron al analizar a los del grupo anterior (cuadro 10A). A las 24 horas = 49.3 ± 35.5 ; 48 horas = 47.9 ± 28.6 y a 72 horas = 36.2 ± 27.0 . No existieron diferencias significativas entre los promedios de los diferentes tiempos de exposición, hecho corroborado por pruebas de homogeneidad de varianzas. El número mayor de larvas observado de 149 es el obtenido a 24 horas de exposición (cuadro 10).

La figura 2 muestra una distribución aproximadamente normal en las medidas de longitud total (tamaño) de todos los especímenes. Los promedios obtenidos al infectar a especímenes del grupo A (cuadro 11) de dos ámbitos de tamaño son los siguientes: entre 5.5-8.5mm = 33.9 ± 32.7 y entre 10.0-13.5mm = 35.8 ± 49.2 . No existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los promedios de los ámbitos.

Los promedios de especímenes infectados del grupo A₁ son los siguientes: entre 5.5-8.5mm = 41.7 ± 32.7 y entre 10.0-

13.5mm = 101.2 ± 64.0 . En este caso si se encuentran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estos promedios (cuadro 11).

Los cálculos estadísticos, tales como análisis de varianzas y pruebas de homogeneidad, de todos los tratamientos se encuentran en los apéndices.

Se liberaron en forma natural un promedio de 7 L₃ por día (cuadro 12). Los porcentajes de liberación espontánea oscilan entre 0 y 55.5% (cuadro 13) pero la mayoría (7 datos) oscilan entre 0-25%. Larvas inactivas se encontraron unicamente al siguiente día post mortem (caracoles 2 y 6). Para el día 31 post infección (cuando se procesan los caracoles del ensayo de liberación espontánea) se notó que los caracoles 1,2,5,7 y 8 presentaron porcentajes entre el 58% y 92% de larvas activas en relación con larvas inactivas; en los especímenes restantes (3,4,y 6) al contrario, es mayor el porcentaje de larvas inactivas (entre 65.5% y 95.5%) que el de larvas activas.

No se encontró respuesta celular en el caracol ante la presencia de larvas de A. costaricensis; las observaciones evidenciaron que las larvas se ubican en mayor proporción en el pie; sin embargo se encontraron en el manto y en mucho menor proporción en otros organos no identificados del molusco.

CUADRO Nº 1

Número total de larvas de *A. costaricensis* en *P. faliginea* de diferentes tamaños expuestos a 400 L₁/caracol durante 24 horas. Laboratorio de Helminología. Universidad de Costa Rica, 1986.

Especimen	día muerte post-infec	longitud total (mm)	ancho (mm)	longitud abertura (mm)	# total de larvas encontrado
1	3	10.50	6.0	8.00	**
*** 2	3	10.00	5.90	7.15	26
3	3	10.00	6.20	8.00	15
4	4	10.80	6.70	8.00	8
5	4	9.00	5.85	6.45	1
6	4	8.75	5.50	7.00	6
7	4	8.20	5.00	6.70	2
8	6	8.85	5.30	6.65	35
9	6	8.70	5.00	6.45	15
10	6	9.60	5.35	6.90	9
11	7	9.20	5.75	7.20	6
12	7	10.20	6.10	7.60	0
13	8	8.90	5.10	6.60	8
14	8	10.50	6.20	7.75	4
15	8	7.50	4.30	5.25	2
16	8	7.30	4.50	5.60	16
17	10	9.70	5.65	7.40	14
18	11	10.20	6.30	7.80	12
19	11	8.50	4.80	6.35	14
20	13	7.30	4.60	5.70	16
21	15	8.70	5.00	6.35	4
22	15	9.20	5.25	6.80	8
23	16	9.60	5.45	6.65	2
24	16	8.50	5.05	7.30	3
25	16	9.10	6.25	7.05	29
26	16	9.20	6.00	7.25	9
27	16	8.30	4.85	6.25	40
28	18	9.30	5.80	7.75	1
29	18	9.20	5.30	7.00	14
30	19	10.05	5.65	7.55	11
31	20	8.30	4.90	6.00	43
32	21	11.10	6.40	8.10	89
33	22	8.00	5.20	6.50	112
*34	24	10.55	6.25	7.50	9
35	24	7.60	4.70	6.50	10
36	24	8.50	5.00	5.85	29
37	24	8.80	5.25	6.20	77
38	24	8.45	5.35	6.55	28
39	24	12.15	7.15	8.10	94
40	24	8.70	5.05	6.20	38
41	24	9.30	5.45	7.05	101
42	24	8.05	4.95	6.45	44
43	24	8.10	4.55	5.50	94
44	24	8.60	5.00	6.30	76
45	24	8.60	4.80	6.20	1
\bar{X}		9.10	5.44	6.84	26.9
S		1.04	0.64	0.75	31.0

* A partir del espécimen #34, todos los sobrevivientes al día 24 fueron sacrificados y procesados.

** En este individuo se encontró solo la concha, no el cuerpo.

*** Los cuerpos de los especímenes 2 al 33 se procesaron, pero por lo general se encontraban en avanzado estado de putrefacción.

CUADRO N° 2

Porcentaje de *P. faliginea* infectados experimentalmente
 con *A. costaricensis* variando el tiempo de exposición
 con una dosis de 400 L₁/caracol. Laboratorio de
 Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Porcentaje de *P. faliginea* infectados experimentalmente
 variando la dosis (L₁) de *A. costaricensis*/caracol
 con 24 horas de exposición. Laboratorio de
 Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Dosis (L ₁ /caracol)	Número total de caracoles analizados	Número de caracoles infectados (%)
0 (testigo)	45	0
200	45	38 (84.4)
400	45	44 (97.7)
600	42	41 (97.6)
800	35	35 (100)

CUADRO Nº 3

Porcentaje de *P. faliginea* infectados experimentalmente con *A. costaricensis* variando el tiempo de exposición con una dosis de 400 L₁/caracol. Laboratorio de Helmintología. Universidad de Costa Rica. 1986

Tiempo de exposición (h)	Número total de caracoles analizados	Número de caracoles infectados (%)
0 (testigo)	45	0
24	42	41 (97.6)
48	33	33 (100.0)
72	43	41 (95.3)

CUADRO N° 4

Porcentaje de infección de P. faliginea de dos ámbitos de tamaño expuestos a 400 L₁ de A. costaricensis/caracol durante 24 horas. Laboratorio de Helmintología. Universidad de Costa Rica. 1986

Tamaño (mm)	Número total de caracoles analizados	Número de caracoles infectados (%)
5.5- 8.5	45	41 (91.1)
5.5- 8.5	27 (testigos)	0
10.0-13.5	59	52 (88.1)
10.0-13.5	31 (testigos)	0

CUADRO Nº 5

Número y porcentaje de caracoles *P. faliginea* que murieron o sobrevivieron cuando se les infectó experimentalmente con diferentes dosis de *A. costaricensis*/caracol durante 24 horas. Laboratorio de Helmintología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Dosis (L ₁ /caracol)	Número total de caracoles	Mortalidad (muerto antes día 24) (%)	Sobrevivencia (sacrificado día 24)
0 (testigos)	42	19 (45.2)	23 (54.8)
200	45	37 (82.2)	8 (17.8)
400	45	33 (73.3)	12 (26.7)
600	45	30 (66.7)	15 (33.3)
800	44	27 (61.4)	17 (38.6)

CUADRO Nº 6

Número y porcentaje de caracoles de la especie *P. faliginea* que murieron o sobrevivieron cuando se les infectó experimentalmente con una dosis de 400 L₁ de *A. costaricensis*/caracol, a la cual estuvieron expuestos por diferentes períodos de tiempo. Laboratorio de Helmintología, Universidad de Costa Rica. 1986.

Tiempo de Exposición (h)	Número total de caracoles	tasa de mortalidad (antes día 24)(%)	tasa sobrevivencia (sacrificados día 24) (%)
72 (testigos)	45	22 (48.9)	23 (51.1)
24	44	23 (52.3)	21 (47.7)
48	41	14 (34.1)	27 (65.9)
72	45	22 (48.9)	23 (51.1)

CUADRO Nº 7

Número y porcentaje de caracoles *P. faliginea*, que murieron o sobrevivieron cuando se infectaron 2 ámbitos de tamaño con una dosis de 400 L₁ de *A. costaricensis*/caracol durante 24 horas. Laboratorio de Helmintología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Tamaño (mm)	Número total de caracoles	Tasa de mortalidad (antes día 24)		Tasa de sobrevivencia (sacrificados día 24)	
		No.	%	No.	%
5.5- 8.5 mm	50	23	(46.0)	27	(54.0)
Testigo (5.5- 8.5)	27	9	(33.3)	18	(66.7)
10.0-13.5	60	50	(83.3)	10	(16.7)
Testigo (10.0-13.5)	31	25	(80.6)	6	(19.4)

CUADRO Nº 8

Promedios de las medidas utilizadas en la identificación estadios larvales, (L₁ a L₃) de *A. costaricensis*, procesados entre los 0 y 24 días. Laboratorio de Helminthología. Universidad de Costa Rica. 1986.

días post-infección	# larvas medidas	Longitud (micras) $\bar{X} \pm S$	ancho micras $\bar{X} \pm S$	# mudas	Tipo de larva	Observaciones
0	10	245.7 ± 9.0	13.3 ± 0.5	0	L ₁	Las 10 larvas fueron tomadas de un Baermann de heces de rata infectada.
2	10	251.7 ± 12.5	15.5 ± 1.6	0	L ₁	
4	10	248.4 ± 12.2	17.0 ± 1.2	1	L ₁ L ₂	Solo 1 individuo presenta una muda.
9	7	260.1 ± 13.8	14.4 ± 1.0	1	L ₁ L ₂	Se observan L ₁ activas.
	3	311.0 ± 9.5	19 ± 1.7	1	L ₂	Aparecen diferentes estadios al mismo tiempo; larvas con una muda
14	5	252.0 ± 23.5	17.2 ± 5.1	1	L ₁ L ₂ Larvas con 2 mudas	
	3	371.7 ± 20.5	23.0 ± 2.0	2	L ₃	
	8	254.6 ± 16.0	17.7 ± 0.5	1	L ₂	Larvas con 2 mudas
16	1	384.0 ± 0	25.0 ± 0	2	L ₃	
	7	237.3 ± 13.2	16.9 ± 1.7	-	L ₂	Se observan L ₃ activas
18	1	379.0 ± 0	28.0 ± 0	-	L ₃	
24	10	454.3 ± 34.8	25.2 ± 0.9	-	L ₃	L ₃ activas

*A partir del día 9 se observan en la misma muestra individuos de tamaños my diferentes, por lo que se agrupan en forma discreta.

CUADRO Nº 9

Análisis de varianza "una vía" para *P. faliginea* muertos entre los días 1 y 24 inclusive (A) expuestos a 200, 400, 600 y 800 L₁ de *A. costaricensis*/caracol durante 24 horas, y para especímenes sacrificados únicamente el día 24 (A₁) expuestos a las mismas condiciones. Laboratorio de Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Dosis (L ₁ /caracol)	# individuos analizados	$\bar{X} \pm S$	# larvas encontrado mínimo-máximo	I.C.	Estadísticos de prueba
200	45	13.6 ± 20.3	0-104	8-20	C.M. entre: 17685.1699 g.l. = 3
400	45	26.9 ± 31.0	0-112	18-36	C.M. dentro: 1569.7030 g.l. = 163
600	42	44.5 ± 42.6	0-184	31-58	F = 11.267 P = 0.000
800	35	62.1 ± 59.7	1-225	42-83	P < 0.01
<hr/>					
200	8	41.3 ± 34.6	6-104	12-70	C.M. entre: 6521.9322 g.l. = 3
400	12	50.1 ± 36.6	1-101	27-73	C.M. dentro: 2333.3018 g.l. = 46
600	15	67.1 ± 50.4	0-184	39-95	F = 2.795 P = 0.0507
800	15	93.9 ± 59.0	8-225	61-127	P < 0.05

* \bar{X} = promedio de larvas/caracol, S = desviación standar.

**IC = intervalo de confianza del 95% de los promedios

***C.M. entre = cuadrado medio entre los grupos

C.M. dentro = cuadrado medio dentro los grupos

F = estadístico de prueba para ANDEVA, P = probabilidad asociada a F.

CUADRO NO 10

Análisis de varianza "una vía" para *P. falliginea* muertos entre los días 1 y 24 inclusive (A) expuestos durante 24,48, y 72 horas a una dosis de 400 L1 de *A. costaricensis*/caracol, y para especímenes sacrificados únicamente el día 24 (A₁) expuestos a las mismas condiciones. Laboratorio de Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Tiempo de exposición	# caracoles analizados	$\bar{X} \pm S$ *	# larvas encontrado mínimo-máximo	I.C.**	Estadísticos de prueba***
A	24 h	34.2 ± 33.8	0-149	23.7-44.8	C.M. entre: 4243.5682 g.l. = 2
	48 h	44.2 ± 28.5	6-125	34.1-54.3	C.M. dentro: 869.7638 g.l. = 115
	72 h	23.0 ± 25.5	0-115	15.1-30.9	F = 4.879 P = 0.003 P < 0.0001
A ₁	24 h	49.3 ± 35.5	9-149	33.2-65.5	C.M. entre: 1194.1840 g.l. = 2
	48 h	47.9 ± 28.6	6-125	36.5-59.2	C.M. dentro: 919.9320 g.l. = 68
	72h	36.2 ± 27.0	6-115	24.5-47.8	F = 1.298 P = 0.2797 P > 0.05

* \bar{X} = promedio total de larvas/caracol, S = desviación standar.

**IC = intervalo de confianza del 95% de los promedios

***C.M. entre = cuadrado medio entre los grupos

C.M. entro = cuadrado medio dentro los grupos

F = estadístico de prueba para ANDEVA, P = probabilidad asociada a F.

Análisis de varianza "una vía" para *P. faliginea* de dos ámbitos de tamaño (5.5-8.5 mm y 10.0-13.5 mm, respectivamente) expuestos a 400 L₁ de *A. costaricensis* durante 24 horas, muertos entre los días 1 y 24 (inclusive) post infección (A) y para individuos sacrificados únicamente el día 24 (A₁) expuestos a las mismas condiciones. Laboratorio de Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Ambito de tamaño	# de individuos analizados	$\bar{X} \pm S$ *	# larvas encontradas mínimo-máximo	I.C.**	Estadísticas de prueba
A 5.5-8.5 mm	45	33.9 ± 32.7	0-151	24.0-43.7	C.M. entre 93.4240 g.l. = 1 C.M. dentro = 1838.5425 g.l. = 102 F = 0.051 P = 0.8221 P > 0.05
10.0-13.5	59	35.8 ± 49.2	0-259	23.0-48.6	
A ₁ 5.5-8.5 mm	9	41.7 ± 32.7	9-105	16.6-66.8	C.M. entre 15960.889 g.l. = 1 C.M. dentro = 2582.0972 g.l. = 16 F = 6.181 P = 0.0243 P < 0.05
10.0-13.5 mm	9	101.2 ± 64.0	57-259	52.0-150.4	

* \bar{X} = promedio total de larvas/caracol, S = desviación estándar.

**I.C. = intervalo de confianza del 95% de los promedios.

***C.M. entre = cuadrado medio entre los grupos.

C.M. dentro = cuadrado medio dentro de los grupos.

F = estadístico de prueba para ANDEVA

P = probabilidad asociada a F.

CUADRADO No 12

Liberación espontánea de larvas (activas o inactivas) de *A. costaricensis* de *P. faliginea* entre los días 25 y 31, post infección. Laboratorio de Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Especímen #	Estadio larval	Días post-infección							Total larvas activas	Total larvas inactivas	Observaciones
		25	26	27	28	29	30	31			
1	Inactiva Activa	-	-	-	-	-	-	-	11	0	
2	Inactiva Activa	-	-	-*	3	2	-	-	5	5	Aparece L ₂ solo después de muerto el especimen
3	Inactiva Activa	-	-	-	-	-	-	-	1	0	
4	Inactiva Activa	-	-	-	-	-	-	-	0	0	
5	Inactiva Activa	1	2	-	-	1	1	0	5	0	
6	Inactiva Activa	-	-	-	-	-	1	-	5	1	Aparece L ₂ solo después de
7	Inactiva Activa	2	-	-	-	-*	3	-	8	0	
8	Inactiva Activa	17	1	1	-	-	-	-	19	0	

*especimen muerto en el transcurso del experimento.

CUADRO Nº 13

Número y porcentaje de larvas, larvas activas, larvas inactivas y larvas activas liberadas espontáneamente de *A. costaricensis* en 8 especímenes de *P. falginea* expuestos a 400 L₁/caracol durante 24 horas analizados entre los días 25 y 31 post infección. Laboratorios de Helminología. Universidad de Costa Rica. 1986.

Especimen	Total de larvas	Total de larvas activas (%)	Total de larvas inactivas (%)	Porcentaje (%) de larvas activas liberadas espontáneamente
1	105	61 (58.0)	44 (42.0)	18.0
2	26	16 (61.5)	10 (38.5)	31.0
3	29	10 (34.5)	19 (65.5)	10.0
4	111	5 (4.5)	106 (95.5)	0.0
5	259	221 (85.3)	38 (14.7)	23.0
6	64	9 (14.1)	55 (85.9)	55.5
7	99	88 (88.9)	11 (11.1)	9.1
8	83	76 (91.6)	7 (8.4)	25.0

Figura 1. Número promedio de larvas de A. costaricensis obtenido al variar la dosis de exposición en P. faliginea (A. promedios de larvas obtenidas para P. faliginea muertos entre los días 1 y 24 post-infección; A₁. promedio de larvas obtenidos para P. faliginea muertos el día 24 post-infección. Laboratorios de Helmintología. Universidad de Costa Rica. 1986.

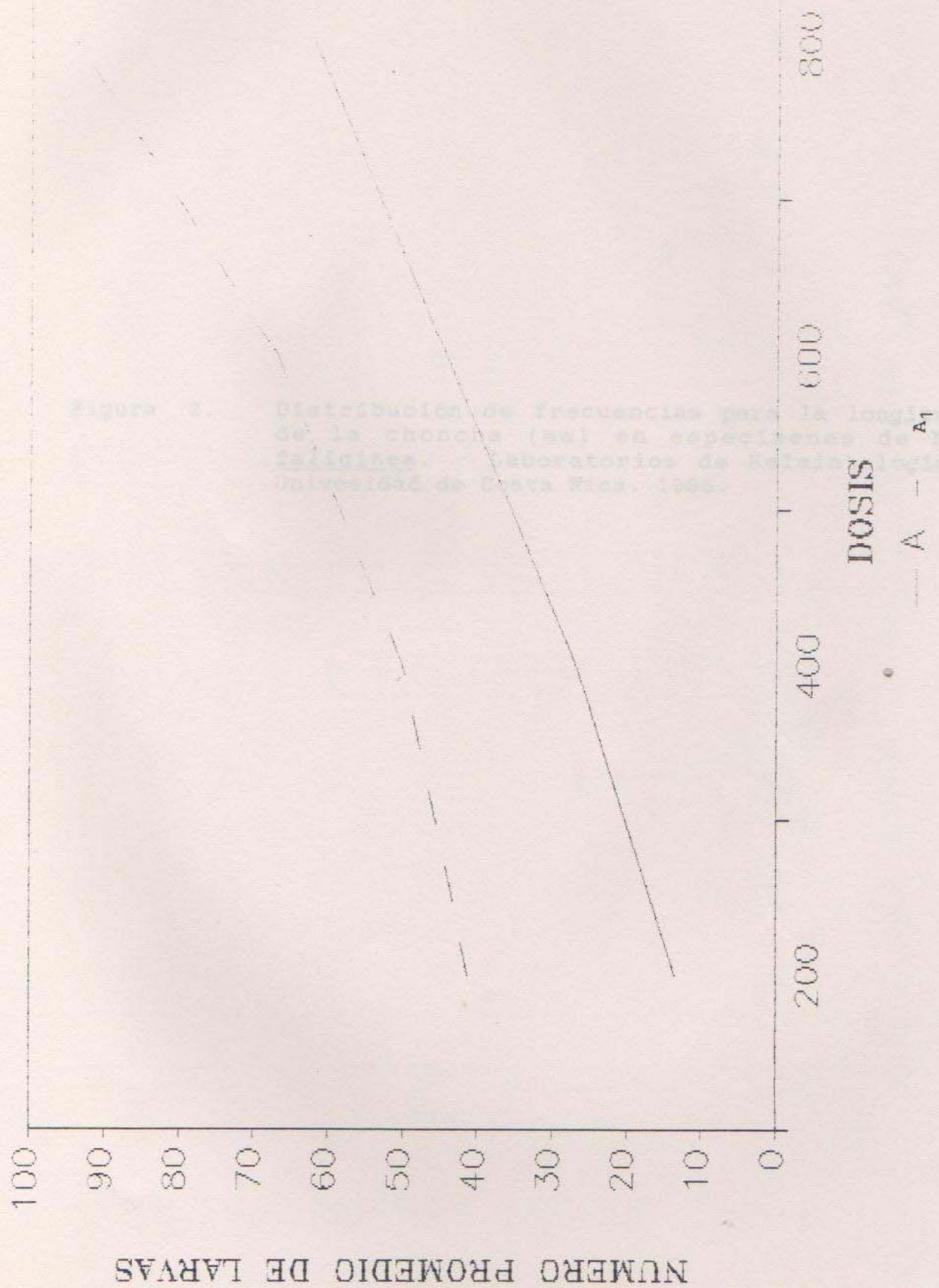


Figura 2. Distribución de frecuencias para la longitud de la choncha (mm) en experimentos A y A1. Laboratorios de Matemática y Biología, Universidad de Costa Rica, 1966.

Figura 2. Distribución de frecuencias para la longitud de la choncha (mm) en especímenes de *P. faliginea*. Laboratorios de Helmintología. Univesidad de Costa Rica. 1986.

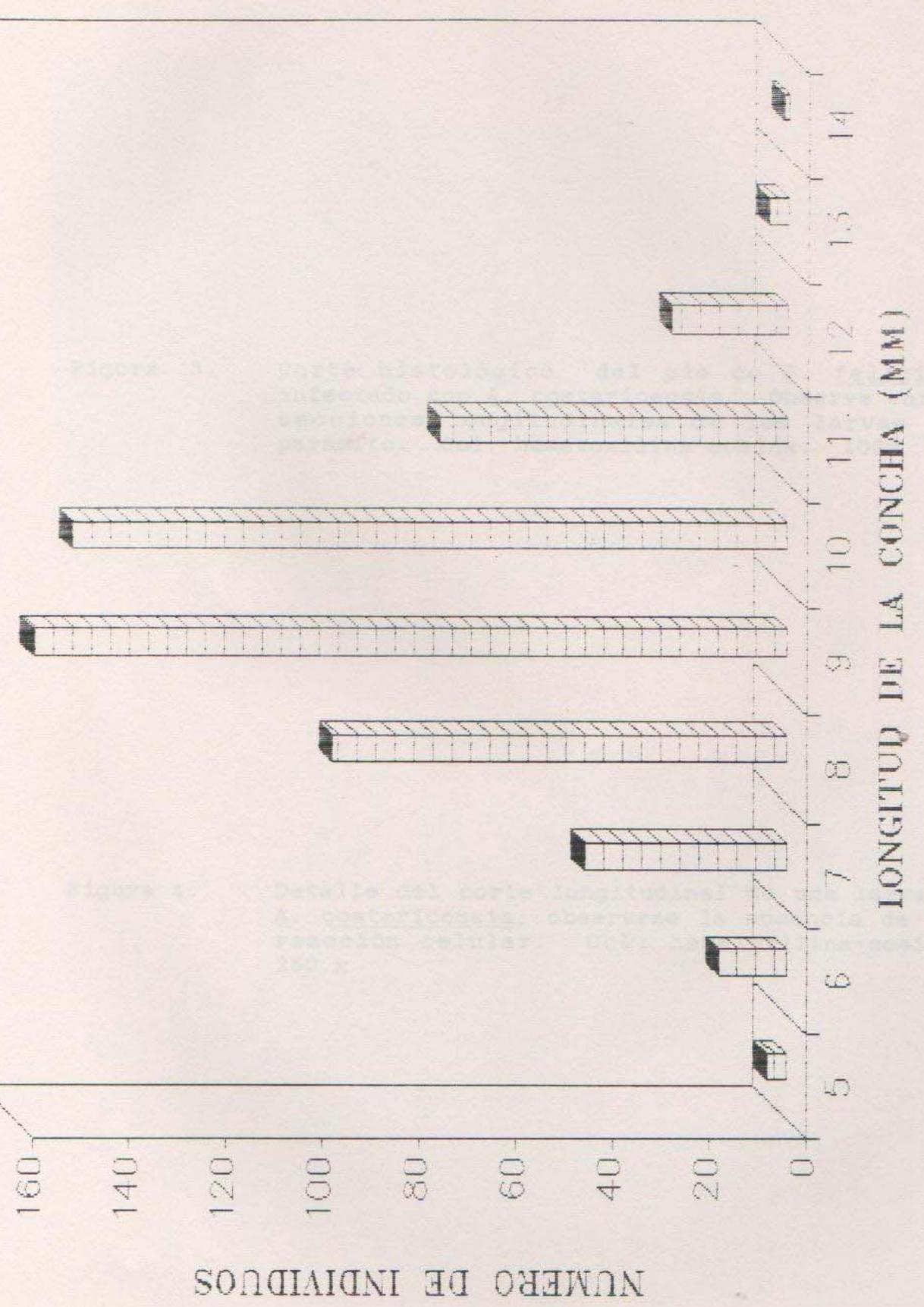


Figura 3. Corte histológico del gusano adherido a la concha.

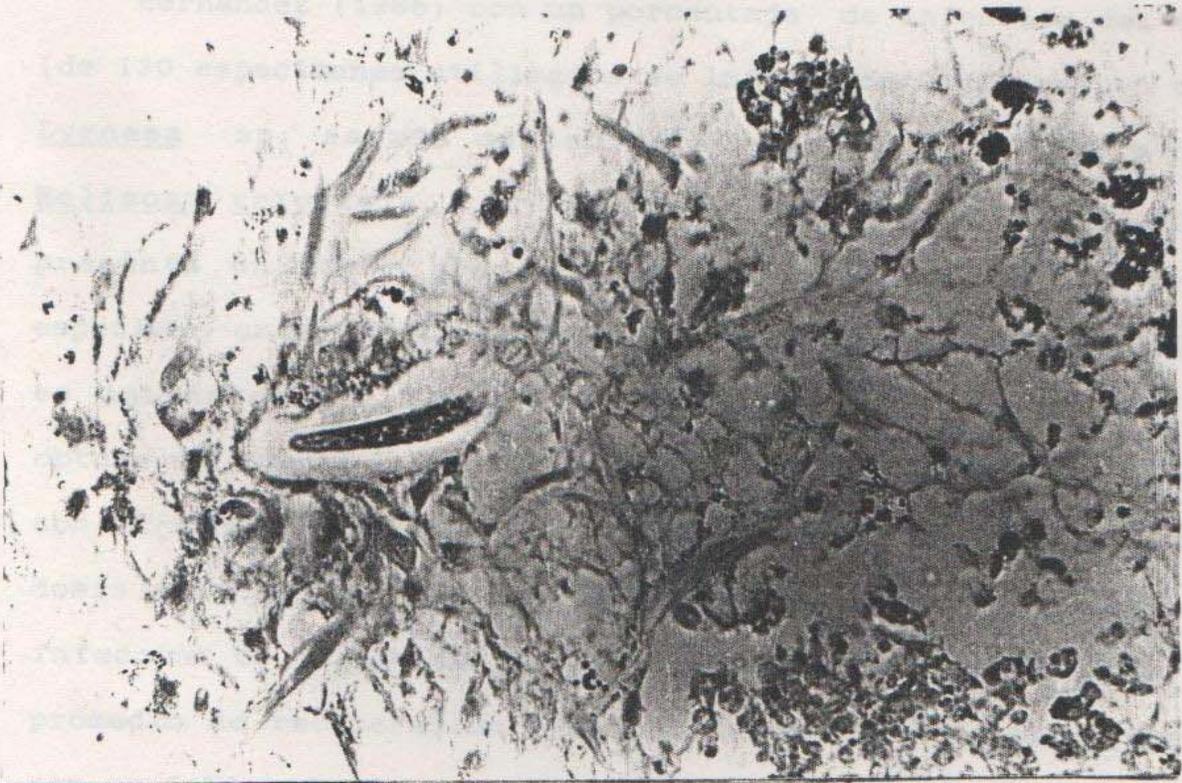
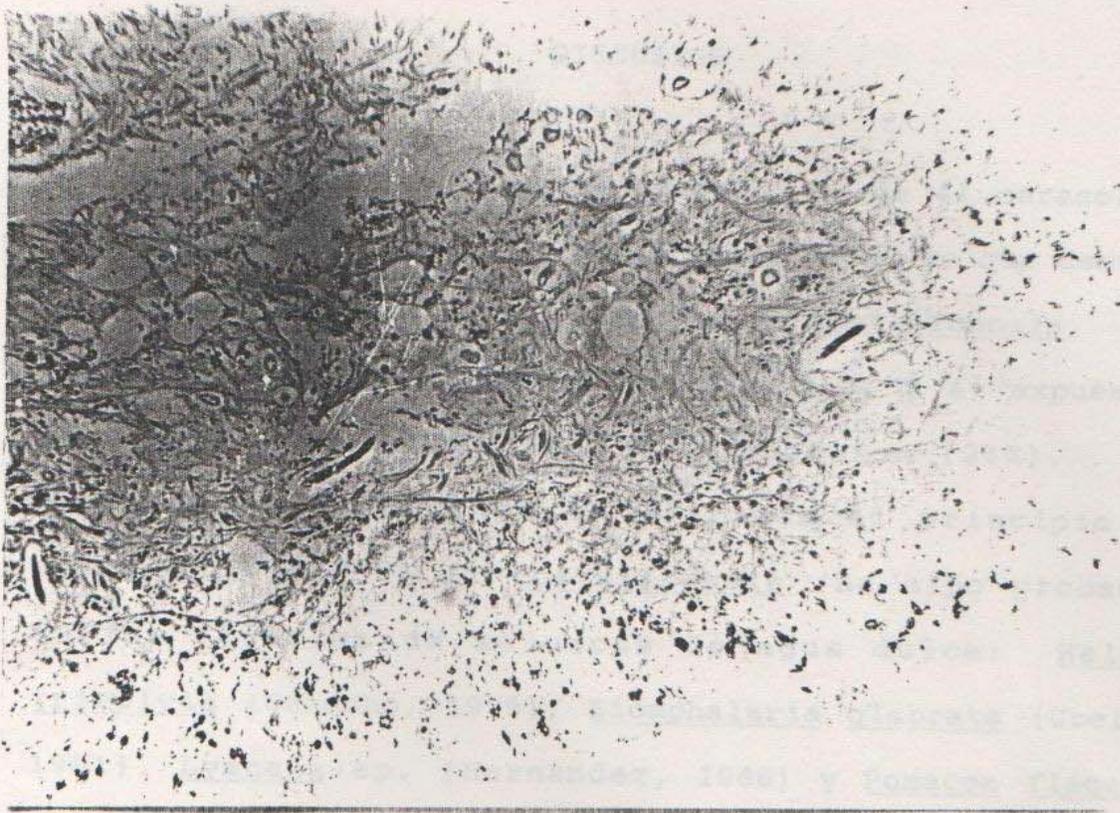
Figura 4. Detalle del corte longitudinal de la concha.

LONGITUD DE LA CONCHA (MM)

NUMERO DE INDIVIDUOS

Figura 3. Corte histológico del pie de P. faliginea infectado con A. costaricensis. Observe varias secciones longitudinales de las larvas del parásito. Col: hematoxilina-eosina. 100x

Figura 4. Detalle del corte longitudinal de una larva de A. costaricensis; observese la ausencia de una reacción celular. Col: hematoxilina-eosina. 250 x



Las diferencias entre el número total de caracoles analizados para cada tratamiento (cuadros Nº 2,3, y 4) con respecto a las cifras iniciales de 45, son debidas a valores perdidos completos, es decir, al momento de revisar los frascos en que se mantenian los caracoles, no se encontraron ni la concha, ni el cuerpo del molusco. Las diferencias halladas en los cuadros 5,6, y 7 (referentes a mortalidad de los caracoles) con respecto a las cifras iniciales de 45 especímenes, son debidas a valores perdidos parciales, esto es, se encontró la concha pero no el cuerpo del molusco.

Al aumentar la dosis de exposición se observó un incremento en el número de caracoles infectados (cuadro 2), debido a que aumenta la probabilidad de encuentro y entrada de larvas al caracol, conforme aumente la densidad de éstas en el medio; algo similar ocurre al aumentar el periodo de exposición (cuadro Nº 3), en este caso debido a que hay más tiempo para que se dé el encuentro y entrada de las larvas al caracol. Al utilizar 2 ámbitos de tamaño (cuadro Nº 4), parece no haber diferencia en el porcentaje de individuos infectados grandes y el de pequeños.

No se encontraron especímenes infectados naturalmente, pero esto no indica que no haya infección natural, puesto que se ha demostrado disposición a la infección por A. costaricensis. Bajo ciertas condiciones, la infección natural se puede dar; de ser así, esta especie puede representar un verdadero peligro para la salud pública, dada la amplia distribución del molusco.

La tasa de mortalidad encontrada, entre 33 (mínimo) y 84% (máximo) (cuadros 5,6, y 7) definitivamente no se debe a lesiones y desordenes producidos por las larvas del parásito en el hospedero, ya que la mayoría de especímenes muertos no las portaban. Hernández (1986) observó una diferencia en la mortalidad entre especímenes de Lymnaea sp. colectados en el campo (de un 70%) y de especímenes nacidos en laboratorio (del 16%); y concluyó que debido a que la infección con A. costaricensis se hizo a 5 días después de colectados, los moluscos no tuvieron el tiempo suficiente para adaptarse a las condiciones de laboratorio. Todos los caracoles que se utilizaron en ésta investigación fueron colectados y llevados al laboratorio 2 o 3 días antes de cada experimento, por lo tanto un período de adaptación tan corto, quizás incidió en forma directa en las altas tasas de mortalidad encontradas en P. faliginea. Sin embargo, se debe tener en cuenta que varias especies de este género presentan ámbitos amplios de resistencia a pH, alcalinidad, concentración de oxígeno, concentración de dióxido de carbono y temperatura (Hart y Fuller, 1974), por lo que podrían ser otros los factores que provocan esta alta tasa.

La mayor mortalidad de individuos grandes (10.0-13.5 mm) con respecto a los pequeños (5.5-8.5 mm) (cuadro 7), puede deberse a factores puramente biológicos, ya que los especímenes de mayor tamaño quizás sean los de mayor edad, y por lo tanto, los que tengan mayor probabilidad de una muerte natural.

El desarrollo larval de A. costaricensis en P. faliginea se completó al decimo-octavo día post infección, en el que se encontraron L₃ activas, dato que concuerda con el encontrado por Morera (1973) para el desarrollo de L₃ infectantes en Vaginulus (S) plebeius (entre el día 16-18) (cuadro N° 8). Es importante recalcar, que todos los estadios de desarrollo dentro del molusco son inmóviles y que cuando las L₃ son liberadas se vuelven muy activas (Morera, 1973). Hernández (1986) en Lymnaea sp. adultos, nacidos en laboratorio, encontró éste tipo de larvas al vigésimo día, mientras que en caracoles adultos colectados en el campo, las L₃ aparecieron entre el decimo-segundo y el decimo-cuarto día, por lo que el autor establece que estos caracoles podrían haber tenido infección natural. En Helisoma trivolvis (Camacho, 1979) y en Pomacea flagellata (Briceño, 1986) las L₃ maduras se encontraron hasta el vigesimosexto día post infección. Estas diferencias en el desarrollo de las larvas, podrían deberse a las diferentes condiciones fisico-químicas que presentan los hospederos, que inciden en un crecimiento más lento o más rápido. La distancia filogenética a nivel de familia (entre Lymnaea sp., H. trivolvis y P. faliginea), y más aún de orden (entre V. plebeius y las tres anteriores) y de subclase (entre P. flagellata y las 4 especies anteriores) indican que estos individuos son muy diferentes, tanto morfológica como bioquímicamente.

Las larvas del segundo estadio aparecen por primera vez entre el cuarto y el noveno día post infección en el que tienen un promedio de 311 micras de largo y 19 de ancho; las

de tercer estadio (segunda muda), aparecen entre el noveno y el decimo-cuarto día post infección (311 micras de largo y 19 de ancho, para el día 9, y 371.4 de largo con 23 de ancho, para el día 14) (cuadro N° 8).

Morera (1973) indica que la primera muda en la babosa, ocurre al cuarto día, en que la larva mide 300 micras de largo y 20 de ancho, y que la segunda ocurre entre el decimo-primer y decimo-cuarto día, en donde miden 370 micras de largo y 36 de ancho. Evidentemente el desarrollo larval (de L₁ a L₃) en P. faliginea es similar al encontrado por Morera (1973) en Vaginulus plebeius.

El mosaico de medidas encontrado entre los días 9 y 24 indican la presencia de diferentes estadios larvales (L₁, L₂, o L₃) de A. costaricensis conviviendo al mismo tiempo dentro de los moluscos (cuadro N°8). Esto mismo ha sido corroborado por Hernández (1986) para Lymnaea sp. y por Briceño (1986) para P. flagellata. Muchos estudios con A. cantonensis indican lo mismo; Rachford (1976) para Lymnaea palustris (Gastropoda: Lymnaeidae); Wen (1977) y Hori y Yamaguchi (1982) para Achatina fulica (Gastropoda: Achatinidae) y Hori (1976) para Bradybaena oceanica (Gastropoda: Bradybaenidae).

Generalmente, para el primer día en que ocurre una muda, el porcentaje de L₂ o L₃ (si es segunda muda) es bajo y va aumentando gradualmente; en nuestro caso, al cuarto día existe un bajo porcentaje de L₂, mientras que al noveno día, el porcentaje de L₂ aumenta considerablemente; lo mismo ocurre para el porcentaje de L₃.

Es evidente la existencia de los tres estadios larvales (L_1 , L_2 , y L_3) de A. costaricensis al mismo tiempo en P. faliginea. La presencia de larvas "atrasadas" en su desarrollo, podría deberse a factores intrínsecos del hospedero intermediario, que evitan un normal crecimiento de algunos de los parásitos. Por otro lado, puede existir un potencial genético diferente en las larvas de tal manera que unas se desarrollan y llegan a L_3 maduras más rápido que otras, en las que el crecimiento y desarrollo es más lento.

El grupo de larvas activas que se encontraron en un espécimen de P. faliginea (cuadro 8) a los 9 días post infección, resultaron ser L_1 . Esto podría ser explicado si se toma en cuenta que las L_1 son viables y móviles aún a los 10 días y solo móviles a los 18 días (Arroyo y Morera, 1978). Estas larvas no penetraron al caracol, sino más bien se alojaron en una cavidad no identificada de P. faliginea y salieron al medio al efectuarse la disección de éste espécimen.

El hecho de dividir los datos en 2 grupos (A, con datos totales de especímenes muertos entre el día 1 y 24 inclusive, y A_1 con datos parciales compuestos únicamente por los individuos sacrificados el día 24 post infección) obedeció a la desconfianza en los resultados que se obtuvieron al cuantificar especímenes muertos naturalmente. Esto debido a que los especímenes muertos presentan una putrefacción rápida (de horas); si se tiene que la ubicación final de la mayoría de las larvas en el hospedero intermediario es a nivel del pie (órgano más expuesto), la

putrefacción hace que los tejidos se desintegren y las larvas ahí presentes (de cualquier estadio) se liberen al medio; lo anterior fue demostrado por los experimentos de liberación natural de larvas a partir del hospedero intermediario (cuadro 12) en los que mueren 2 caracoles y se observan L₂ y L₃ en el fondo de los embudos.

La mortalidad en laboratorio de estos moluscos es bastante alta (cuadros 5,6,7). En algunos casos, por ejemplo, un caracol moría a las 10 pm., de un determinado día, a las 7 am., del siguiente día se revisaban los frascos y se notaba la muerte; en ese lapso de 9 horas el caracol se podría y una cantidad no determinada de larvas salían al medio. Al procesar a éste espécimen y contar el número de larvas se estaba cayendo en un error, pues existían datos perdidos, lo que a la postre ocasionaría malas interpretaciones. Si se comparan los resultados hallados en los análisis de los dos grupos (A y A₁) se nota una gran diferencia entre los promedios obtenidos del análisis del grupo A para un tratamiento con respecto a los obtenidos por el análisis del grupo A₁ para el mismo tratamiento (cuadros 9,10 y 11).

El utilizar a especímenes "sacrificados" al día 24 post infección (grupo A₁) para los análisis, nos da la certeza de que posiblemente no hay pérdida de larvas, pues no hay putrefacción y se asegura la obtención de resultados confiables. Por esta razón para nuestras conclusiones utilizamos solamente los análisis del grupo A₁.

Las dosis de 200,400 y 600 L₁/caracol no resultaron ser estadísticamente diferentes entre sí; ni tampoco la de 600 con la de 800 L₁/caracol, pero sí lo fueron las de 200 comparada con la de 800, y la de 400 comparada con la de 800. Por lo visto, una relación proporcional creciente existe entre el número de L₁ a que el caracol fue expuesto y el promedio de larvas recuperado al día 24; esto es, entre más larvas se administren, mayor número ingresarán al caracol (cuadro N° 9, gráfico 1), puesto que al hacerlo aumentan las probabilidades de encuentro e ingestión entre el hospedero y el parásito. Pero para que el número de larvas recuperadas sea realmente diferente deben administrarse dosis con un ámbito de 600 o más larvas (dosis de 200,800,1400, etc. L₁/caracol), ya que el ámbito de 200 L₁ utilizado en el experimento no produjo resultados diferentes.

Briceño (1986) utilizando las mismas dosis durante 72 horas en P. flagellata, encontró diferencias significativas entre las dosis de 200 y 800 L₁/caracol. En Lymnaea sp. Hernández (1986), con una metodología idéntica a la de Briceño no encuentra diferencia entre las dosis.

Otras relaciones proporcionales crecientes entre dosis y promedio de larvas recuperado han sido reportadas en Achatina fulica con dosis de 5000, 10000 y 20.000 L₁ de Angiostrongylus vasorum/caracol (Sauerlander y Eckert, 1974, cit. por Yousif y Lämmler, 1975) y en B. glabrata con dosis de 500,1000,2000 y 4000 L₁ de A. cantonensis/caracol (Yousif y Lämmler, 1975).

Teóricamente, se esperaría que al aumentar el período de exposición aumentasen el número de larvas recuperadas, puesto que existiría más tiempo para que los moluscos ingiriesen un mayor número de éstas. Briceño (1986) informa que el número de larvas de A. costaricensis recuperadas de P. flagellata expuestas a 400 L₁ por caracol por día, aumenta conforme el período de exposición en 24, 48 y 72 horas. Al exponer a P. faliginea a únicamente 400 L₁/caracol de A. costaricensis, durante 24, 48 y 72 horas, los promedios de larvas recuperadas no son significativamente diferentes; el mismo resultado lo obtiene Hernández (1986) con Lymnaea sp., pero con la misma metodología utilizada por Briceño. Esto podría deberse a que P. faliginea se infecta solo el primer día.

Yousif y Lämmler (1975) al exponer a B. glabrata a 500 L₁ de A. cantonensis/caracol determinaron que el 100% de los moluscos se infectaban a los 30 minutos de exposición, y que la proporción más grande (44%) de la carga total de larvas penetraba al caracol en la primera media hora; en la segunda media hora ya el 70% de la carga total había penetrado; el número de larvas que penetraban a partir de este momento disminuyó considerablemente; finalmente, los autores recomiendan únicamente 3 horas de exposición. Rachford (1976 a y b) utiliza para infectar Lymnaea palustris tiempos de exposición de 6 horas.

En los especímenes de P. faliginea de menor tamaño (5.5-8.5mm) se recuperaron (en promedio) menos larvas de A. costaricensis/caracol que en los especímenes de mayor tamaño (10.0-13.5mm). Algo similar ocurre en Lymnaea sp.

(Hernández, 1986). Conejo (1985) relaciona el peso de babosas (*Veronicellidae*) con la edad, e informa que las de mayor peso (por lo tanto, mayor edad) se infectan en forma natural, en menor cantidad con *A. costaricensis* que las de peso menor (menor edad). Una relación similar podría hacerse para el tamaño y la edad. Briceño (1986) indica que especímenes jóvenes (pequeños) de *P. flagellata* infectados experimentalmente contienen un mayor número de larvas de *A. costaricensis* en comparación con especímenes adultos (grandes), y argumenta que esto se debe a que los caracoles de menor tamaño se alimentan más que los de mayor tamaño.

Un efecto del tamaño del caracol sobre la intensidad de infección con larvas de *A. cantonensis* ha sido reportado por varios autores. Wallace y Rosen en 1969 (Cit. por Yousif y Lämmler, 1975) examinando especímenes de *Achatina fulica* de varios tamaños, encontraron que el número de larvas aumentaba conforme aumentaba el tamaño del caracol; ellos explican la diferencia en intensidad de la infección, entre algunas especies de moluscos basados en su tamaño, de tal modo que algunas especies que tienen una baja intensidad de infección con el parásito son pequeñas en tamaño, mientras que las que tienen una alta intensidad de infección presentan tamaños mayores. Yousif y Lämmler en 1975 determinan que *B. glabrata* infectados con *A. cantonensis* de 2 mm. de diámetro presentan una intensidad de infección menor que la de otros tamaños (4, 8, 12 y 16 mm).

Las diferencias en la intensidad de infección de *P. faliginea* pequeños y grandes, así como las vistas en los

anteriores moluscos, se pueden explicar de dos posibles maneras: a) una diferencia de susceptibilidad entre adultos y juvenes o b) porque en caracoles juvenes, el tamaño pequeño determina el número de larvas que estos puedan soportar; en caracoles viejos, el tamaño no parece jugar un papel significativo para determinar la intensidad de infección (Yousif y Lämmler, 1975).

La liberación espontánea de larvas de tercer estadio de A. cantonensis ha sido demostrada para varios moluscos terrestres (A. fulica, Subulina octona (Gastropoda: Achatiniidae) y Veronicella altae (Gastropoda: Veronicellidae) por Cheng y Alicata (1964). Morera y Céspedes, (1971) reportan que larvas infectantes de A. costaricensis pueden ser encontradas en la secreción mucosa o baba de babosas (V. plebeius) infectadas.

Se demostró la emergencia espontánea de L₃ maduras de A. costaricensis en los especímenes de P. faliginea infectados (cuadro 12). Los porcentajes de liberación con respecto a cantidad de larvas activas oscilan entre 0 y 55.5% y concuerdan con los bajos porcentajes encontrados por Ubelaker (1981) para B. glabrata. Hernández (1986) encontró que una sola L₃ de A. costaricensis se eliminó en forma natural en Lymnaea sp.

Estos resultados son útiles para alertar a los investigadores a que eviten el contacto con hospederos infectados con especies de Angiostrongylus; si los hospederos son acuáticos se debe tener igual cuidado con el agua de los acuarios.

El mejor mecanismo de salida de las larvas de A. costaricensis de P. faliginea, y de otros caracoles que actúan como hospederos, puede darse al morir el molusco. Ubelaker et al., (1980) observaron que la salida espontánea de larvas de A. costaricensis aumentó considerablemente al morir uno de los B. glabrata examinados. Otro posible mecanismo de salida de larvas del género Angiostrongylus de sus hospederos puede ser debido a la formación de heridas mecánicas en moluscos infectados (Cheng y Alicata, 1964).

Es de especial interés el hecho de encontrar diferentes estadios larvales después de la muerte de 2 de los P. faliginea infectados. Esto indica sin lugar a dudas, que al desintegrarse los tejidos por la putrefacción, las larvas de diferentes estadios de A. costaricensis, salen al medio; este factor se tomó en cuenta a la hora de analizar los datos. Como se explicó al principio de ésta discusión, el porcentaje de larvas activas y el de inactivas varía en los diferentes caracoles (cuadro N° 13), notándose la convivencia de diferentes estadios larvales al mismo tiempo en el hospedero.

El mayor número de larvas (L₁, L₂ o L₃) se encuentra a los 24 días post infección en el pie del molusco, órgano ventral reptante, formado de fibras musculares que corren en todas direcciones, permitiendo gran variedad de movimientos y que posee un buen número de glándulas que secretan mucus que facilitan su desplazamiento (Malek, 1962). Esta ubicación favorece definitivamente la salida de larvas infectantes del molusco, ya que el pie es el órgano más expuesto al medio. Se encuentran números más pequeños de larvas en el manto y

mucho menores en las visceras. Briceño (1986) encuentra resultados similares en el pie, manto y visceras de P. flagellata. En A. fulica experimentalmente infectados con A. cantonensis, las L₃ se alojan en el pie y el manto (48.5%) y en la glándula digestiva y otros órganos (51.5%) (Hori y Yamaguchi, 1982). Parece entonces que la ubicación final de las larvas de A. costaricensis está directamente relacionada con la salida de estas del hospedero intermediario al medio.

El sistema inmune de los moluscos es innato y no adquirido, así que estos responden de una manera genéticamente predeterminada a las infecciones, por lo que son incapaces de actuar contra infecciones que se establecen o de aprovecharse de una exposición previa a los parásitos (Minchella, 1985).

Se ha demostrado la presencia de una reacción inmune a larvas de A. costaricensis en babosas naturalmente infectadas de la familia Veronicellidae (Conejo, 1985) y en el ampulárido, P. flagellata experimentalmente infectado (Briceño, 1986). B. glabrata también reacciona encapsulando larvas de A. costaricensis y de A. cantonensis (Katakura, 1979). Lymnaea palustris (Rachford, 1976) y A. fulica reaccionan de igual modo que las anteriores.

No se observó en P. faliginea infectados con A. costaricensis, la presencia de mecanismos de inmunidad celular tales como acumulación de amebocitos y de fibroblastos, hecho concordante con el encontrado por Hernández (1986), quien propone una relación simbiótica tipo comensalista entre Lymnaea sp. y A. costaricensis, en vez de

una de tipo parasitario; este mismo autor propone que lo único que necesita la larva es un sitio que le brinde las condiciones necesarias para un buen desarrollo. Algo similar podría estar ocurriendo en *P. faliginea*.

Por otro lado podría ser que la ausencia de una respuesta celular, constituya una estrategia evolutiva que utiliza el molusco para minimizar el efecto negativo provocado por el parásito. Minchella (1985), postula que los caracoles han desarrollado otras estrategias para combatir el establecimiento de infecciones parasitarias por tremátodos digeneos, ya que el sistema inmune (resistencia activa), puede ser en algunos casos, una inapropiada y costosa estrategia, desde el punto de vista energético. Dos de estos mecanismos son la compensación de la fecundidad y el gigantismo. La compensación de fecundidad es una adaptación del molusco en respuesta a la infección por tremátodos, caracterizada por una producción explosiva de huevos, inmediatamente después de la exposición al parásito. Las infecciones de esquistosomas en moluscos, hospederos intermediarios, producen una reducción o completa inhibición de la producción de huevos en el caracol; la alta producción de huevos en la etapa prepatente (tiempo entre exposición al parásito y primera muda de la cercaria) ayuda a minimizar el efecto negativo producido por el parásito. La compensación de fecundidad puede ser considerada como una alternativa de resistencia de bajo costo energético. Cuando los parásitos no están presentes, esta alternativa no tiene ningún costo energético, mientras que la resistencia activa, puede tener

un alto costo, reflejado en una reducida fecundidad y una baja habilidad competitiva. El gigantismo o aumento anormal en el crecimiento es utilizado por los caracoles para comprometer la reproducción del parásito y para aumentar las probabilidades de supervivencia del huésped al prolongarle la vida. Los caracoles hospederos de vida larga (perennes, que viven alrededor de 2 años), responden a la infección utilizando la energía, normalmente utilizada en reproducción, para crecimiento. De esta manera el sobrante energético, producto de la castración del caracol no podrá ser utilizada por el parásito.

Presumiblemente, P. faliginea utiliza la estrategia de compensación de fecundidad, al ser infectados por A. costaricensis, más que la del gigantismo, usualmente utilizada por caracoles perennes. Apoyando esta idea, se observó una oviposición mayor en P. faliginea infectados que en testigos.

CONCLUSIONES

1. Physa falginea es susceptible a la infección experimental con larvas de A. costaricensis.
2. No se encontró infección natural de P. falginea con el parásito en el experimento. Sin embargo estos moluscos quizás podrían encontrarse naturalmente infectados, actuando como un nuevo vector de A. costaricensis al hombre o a otros animales.
3. El desarrollo y crecimiento larval de A. costaricensis en P. falginea es similar al observado en su hospedero natural V. plebeius.
4. Se dá un aumento gradual de las larvas de A. costaricensis recuperadas en P. falginea, al aumentar la dosis de exposición (200,400,600,800 L₁/caracol).
5. No se observan diferencias significativas en cuanto a número de larvas recuperado al exponer a los moluscos a diferentes tiempos (24,48, y 72 horas).
6. Se recupera un mayor número de larvas en caracoles grandes (10.0-13.5mm) que en pequeños (5.5-8.5mm).
7. No se encuentra una respuesta inmune de tipo celular del hospedero al parásito.
8. Estadios larvales (L₃) del parásito, salen del caracol en forma espontánea al medio; los investigadores que trabajen con modelos similares a éste, deben tomar

precauciones a la hora de manipular los moluscos y las aguas en que estos se mantienen.

9. No es conveniente procesar y analizar especímenes de P. faliginea muertos en un determinado momento, pues se ha demostrado que la putrefacción del molusco, provoca en forma indirecta, la liberación de estadios larvales al medio, lo que ocasiona una pérdida significativa de datos.
10. Las larvas se ubican principalmente en pie y manto.

significativas ($p < 0.05$) únicamente entre las dosis de 200 y 400 L/caracol y de 400 y 800 L/caracol. Las restantes combinaciones no presentaron diferencias de este tipo.

Nadepoco se halló diferencia significativa ($p < 0.05$) al exponer grupos de moluscos a 400 L/caracol durante 3 tiempos diferentes (24, 48 y 72 horas). Los caracoles de mayor tamaño (10.0-13.5mm) se infectan con un número más grande de larvas que los caracoles de menor tamaño (5.5-8.5mm) ($p < 0.05$).

Algunas larvas infectantes del parásito salen al medio en forma espontánea. No se encontró en el molusco una respuesta inmune celular contra el parásito.

RESUMEN

Se demuestra la susceptibilidad de P. faliginea a la infección con A. costaricensis al encontrar un porcentaje de infección del 97.7%, en 45 especímenes expuestos a 400 L₁/caracol durante 24 horas.

Al variar la dosis de exposición (200, 400, 600 y 800 L₁/caracol) se encuentran diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) únicamente entre las dosis de 200 y 800 L₁/caracol y de 400 y 800 L₁/caracol. Las restantes combinaciones no presentaron diferencias de este tipo.

Tampoco se halló diferencia significativa ($p > 0.05$) al exponer grupos de moluscos a 400 L₁/caracol durante 3 tiempos diferentes (24, 48 y 72 horas). Los caracoles de mayor tamaño (10.0-13.5mm) se infectan con un número más grande de larvas que los caracoles de menor tamaño (5.5-8.5mm) ($p < 0.05$).

Algunas larvas infectantes del parásito salen al medio en forma espontánea. No se encontró en el molusco, una respuesta inmune celular contra el parásito.

Museo Central de Costa Rica. Museo Regional, San José, Costa Rica. 38p.

Branco, E.G. y J.B. Goto. 1988. Contribución al estudio de la clase Trematoda con especial referencia a familia hepática. Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 93p.

Ericoño, C. 1988. Infección experimental de Pomacea flagellata (Gastropoda: Ampullariidae) con Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971 (Nematoda: Angiostrongylidae). Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 43p.

BIBLIOGRAFIA

- Alicata, J. 1964. Biology and distribution of the rat lungworm Angiostrongylus cantonensis, and its relationship to eosinophilic meningoencephalitis and other neurological disorders of man and animals. First International Congress of Parasitology, Rome, Italia. Sept. 1964. pp. 223-248.
- Anderson, R. 1978. CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. N. 5. Keys to genera of the superfamilia Metastrongyloidea. Common. Agric. Bur. England. 44p.
- Arroyo, R. and P. Morera. 1978. Viability of the first stage larvae of Angiostrongylus costaricensis in rat feces. Journal of Parasitology. 64 (1): 146.
- Ash, L.R. 1967. Angiostrongylus michiganensis sp. n. (Nematoda: Metastrongyloidea), a lungworm occurring in the shrew. Sorex cinereus cinereus in Michigan. J. Parasitol. 53 (3): 625-629.
- Baermann, G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von Ankylostomun (Nematodem) larven in Erdproben Medel. Geneesk, Lab. Walteureden, Feetbund, Bataria. pp. 41-47.
- Bahibulaya, M. 1979. Morphology and taxonomy of major Angiostrongylus species of eastern Asia and Australia. IN: Studies on Angiostrongyliasis in eastern Asia and Australia. Ed. Croxx, J. pp. 4-13.
- Biolley, P. 1897. Moluscos terrestres y fluviales de la Meseta Central de Costa Rica. Museo Nacional, San José, Costa Rica. 18p.
- Brenes, R.R. y J.B. Soto. 1968. Contribución al estudio de la clase Tremátoda con especial referencia a Fasciola hepatica. Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 95p.
- Briceño, C. 1986. Infección experimental de Pomacea flagellata (Gastropoda: Ampullariidae) con Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971 (Nematoda: Angiostrongylidae). Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 49p.

- Camacho, H. 1979. Ecología y susceptibilidad de Helisoma trivolvis a la infección con Angiostrongylus costaricensis. Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 75p.
- Conejo, M. 1985. Influencia de la edad de Vaginulus plebeius en infección natural con Angiostrongylus costaricensis. Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 41p.
- Chabaud, A.G. 1972. Description de Stefankostrongylus dubosti n. sp., parasite du Potamogale el essai de classification des Nématodes Angiostrongylinae. Ann. Parasit. 47 (5): 735-744.
- Cheng, T. and J. Alicata. 1964. Possible role of water in the transmission of Angiostrongylus cantonensis (Nematoda: Metastrongylidae). J. Parasitol. 50 (3): 39-40.
- Dougherty, E. 1946. The genus Aelurostrongylus Cameron, 1927 (Nematoda: Metastrongylidae) and its relatives, with descriptions of Parafilaroides, g.n., and Angiostrongylus gubernaculatus, sp.n. Proc. Helm. Soc. Wash. 13 (1): 16-26.
- Drozdz, J. 1970. Revisión de la sistematique du genre Angiostrongylus Kamensky, 1905 (Nematoda: Metastrongyloidea). Ann. Parasit. 45 (5): 597-603.
- Foin, T. and A. Stiven, 1970. The relationship of environment size and population parameters Oxytrema proxima (Say) (Gastropoda: Pleuroceridae). Oecologia (Berl.) 5, 74-84.
- Hart, C. and S. Fuller. 1974. Pollution ecology of freshwater invertebrates. Academic Press, New York, U.S.A. 389p.
- Hernández, L. 1986. Infección experimental de Lymnaea sp. (Gastropoda: Lymnaidae) con Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971 (Nematoda: Angiostrongylidae). Tesis de grado. Universidad de Costa Rica. 49p.
- Hori, E. 1976. Experimental intermediate hosts of Angiostrongylus cantonensis: Studies on snails and a slug. Jap. J. Parasit. 25 (6): 434-440.
- Hori, E. and K. Yamaguchi. 1982. Experimental studies on the development of Angiostrongylus cantonensis in Achatina fulica from Ogasawara islands. Jap. J. Parasit. 31 (4): 265-270.

- Iabuki, K. and M. Monte Negro. 1979. Apendicite por Angiostrongylus costaricensis. Aparentacao de un caso. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 21 (1): 33-36.
- Kamensky, S. 1905. Sistematiceskoe polozenie radov Metastrongylus Worst. Protostrongylus g.n. sredi drugikh Strongylidae. Sbornik Trudov 'Khar' Kov. Vet. Ins. 7 (2): 17-50.
- Katakura, K. 1979. The development of three species of Angiostrongylus in the intermediate hosts. Ja. J. Vet. Res., 27.
- Lim, B. and C. Ramachandran. 1979. Ecological studies on Angiostrongylus malaysiensis (Nematoda: Metastrongylidae) in Malaysia. IN: Studies on Angiostrongyliasis in eastern Asia and Australia. Ed. Cross, J. pp. 26-48.
- Loria-Cortés, R. and J. Lobo-Sanahuja. 1980. Clinical abdominal Angiostrongylosis. A study of 116 children with intestinal eosinophilic granuloma caused by Angiostrongylus costaricensis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 538-544.
- Mackerras, J. and D. Sandars. 1955. The life history of the rat lungworm Angiostrongylus cantonensis (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae). Aust. J. Zool. 3, 1-25.
- Magalhaes, A.; G. Andrade. 1982. Novo caso de Angiostrongylose abdominal. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 24 (4): 252-256.
- Malek, E. 1962. Laboratory guide and notes for Medical Malacology. Burgess Publishing Company. U.S.A. 154p.
- Malek, E. 1981. Presence of Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971 in Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 30, 81-83.
- Mas-Coma, S. 1977. Gallegostrongylus ibicensis n. gen., n. sp. (Nematoda: Metastrongylidae), parasite pulmonaire de Mus musculus, Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae) a Ibiza (Balears). Ann. Parasitol. 52 (6): 637-642.
- Minchella, D. 1985. Host life-history variation in response to parasitism. Parasitology. 90: 205-216.
- Monge, E., E. Arroyo, and E. Solano. 1978. A new definitive natural host of Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971. J. Parasitol. 64 (2): 34.

- Monge-Nájera, J. 1984. Preliminary observations on the ecology and behavior of Aplexa fuliginea (Pulmonata: Physidae) in Costa Rica. *Brenesia*. 22 69-83.
- Morera, P. 1967. Granulomas entéricos y linfáticos con intensa eosinofilia tisular producidos por un Strongilideo (Strongylata Railliet y Henry, 1903). II. Aspecto parasitológico. (Nota previa). *Acta Médica Cost.* 10, 257-263.
- Morera, P. 1970. Investigación del huésped definitivo de Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971. *Bol. Chileno Parasito.* 25, 133-134.
- Morera, P. 1973. Life history and redescription of Angiostrongylus costaricensis Morera y Céspedes, 1971. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22, 613-621.
- Morera, P. 1984. Abdominal Angiostrongyliasis. A problem of public health. Monografía mimeografiada. Universidad de Costa Rica.
- Morera, P. y R. Ash. 1970. Investigación del huésped intermediario de Angiostrongylus costaricensis, Morera y Céspedes, 1971. *Bol. Chileno Parasitol.* 25, 135.
- Morera, P. y R. Céspedes. 1971. Angiostrongilosis abdominal. Una nueva parasitosis humana. *Acta Médica Cost.* 14, 159-173.
- Morera, P. y R. Céspedes. 1971. Angiostrongylus costaricensis n. sp. (Nematoda: Metastrongyloidea) a new lungworm occurring in man in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 18, 173-185.
- Oku, Y., M. Kamiya, M. Ohbayashi y N. Kudo. 1984. Hybridization studies of Angiostrongylus siamensis Ohbayashi Kamiya y Bhaibulaya, 1979 y A. costaricensis Morera y Céspedes, 1971. *J. Parasitol.* 70 (5): 845-846.
- Otsuru, M. 1979. Angiostrongylus cantonesis and Angiostrongyliasis in Japan. IN: *Studies on Angiostrongyliasis in eastern Asia and Australia.* Ed. Cross, J. pp. 74-117.
- Portes-Santos, C. 1985. Redescricao de Angiostrongylus (Parastrongylus) costaricensis isolado de novo hospedeiro silvestre, Proechmys sp. na Venezuela (Metastrongyloidea: Angiostrongylidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 80 (1): 81-83.
- Rachford, F. 1976a. Host parasite relationship of Angiostrongylus cantonensis in Lymnaea palustris. II Histopathology. *Exp. Parasitology.* 39, 382-392.

- Richards, Ch. and J. Merritt. 1967. Studies on Angiostrongylus cantonensis in molluscan intermediate host. *J. Parasitol.* 53 (2): 382-388.
- Robles, G., R. Loria, F. Lobo, A. Robles, S. Valle y C. Cordero. 1968. Granuloma eosinofilico parasitario intestinal. *Rev. Hosp. Niños.* 3, 67-80.
- Sierra E. y P. Morera. 1972. Angiostrongilosis abdominal. Primer caso humano encontrado en Honduras (Hospital Evangélico de Siguatepeque). *Acta Médica Cost.* 15, 95-99.
- Schulz, R. 1951. Phylogenese des nematodes du sous-ordre strongylata et revision de la sistemática de Metastrongyloidea. *Doklady Akad-Nauk. SSSR* 80: 293.
- Skrjabin, K. 1961. Key to parasitic nematodes. Vol. III Strongylata 890 p.
- Sly, D., J. Toft, C. Gardiner and W. London. 1982. Spontaneous occurrence of Angiostrongylus costaricensis in marmosets (Saguinus mystax). *Lab. Anim. Sci.* 32, 286-288.
- Tesh, R., L. Ackerman, W. Dietz and J. Williams. 1973. Angiostrongylus costaricensis in Panamá. Prevalence and pathological changes in wild rodents infected with the parasite. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22, 348-356.
- Tonn, R., G. Hunter, M. Alfaro, A. Zuñiga and D. Redmon. 1964. Seasonal incidence of larval trematodes in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 12, 59-65.
- Ubelaker, J., G. Bullick and J. Caruso. 1980. Emergence of third stage larvae of Angiostrongylus costaricensis, Morera y Céspedes, 1971 from Biomphalaria glabrata (Say). *J. Parasitol.* 66 (5), 856-857.
- Ubelaker, J., J. Caruso, and A. Peña. 1981. Experimental infection of Sigmodon hispidus with third-stage on Angiostrongylus costaricensis. *J. Parasitol.* 67 (2): 219-221.
- Ubelaker, J. and N. Hall. 1979. First report of Angiostrongylus costaricensis Morera and Céspedes, 1971, in the United States. *J. Parasitol.* 65 (2): 307.
- Wallace, C. and L. Rosen. 1969. Techniques for recovering and identifying larvae of Angiostrongylus cantonensis from molluscs. *Malacologia.* 7, 427-438.
- Wen, Y. 1977. Development of Angiostrongylus cantonensis in the lung of Achatina fulica. *Chinese Journal of Microbiology.* 10, 74-79.

- Yousif, F. and G. Lämmler. 1975. The effect of some biological and physical factors in the infection of Biomphalaria glabrata with Angiostrongylus cantonesis. Z. Parasitenk. 47, 191-201.
- Zambrano, A. 1973. Ileocolitis pseudotumoral eosinofilica de origen parasitario. Rev. Latinoamericana de Patología. 12, 43-50.
- Zavala, J., W. Ramirez, A. Reyes y M. Bates. 1974. Angiostrongilosis costaricensis. Primeros casos mexicanos. Rev. Inv. Clín. 26, 389-394.
- Zillioto, A., E. Konzle, R. Fernández, C. Prates-Campos y R. Britto-Costa. 1975. Angiostrongiliase: Apresentacao de um provavel caso. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 17 (5): 312-318.

Apéndice 1: Programa SVS ANOVA, una hoja utilizada para el análisis de los datos obtenidos al procesar especímenes de B. glabrata (descartados al día 24 post infección) expuestos a larvas (L1) de A. cantonesis a diferentes condiciones. Centro de Informática, Universidad de Costa Rica, 1975.

Apéndice 1. Programa SPSS ANDEVA "una vía" utilizado para el análisis de los datos obtenidos al procesar especímenes de P. faliginea (sacrificados el día 24 post infección) expuestos a larvas (L₁) de A. costaricensis a diferentes condiciones. Centro de Informática. Universidad de Costa Rica. 1986.

CRIES FROM MICROSYSTEMS
SPSS STATISTICAL ALGORITHMS
MEMORANDUM THE SPSS INC. MEMORANDUM

CURRENT DOCUMENTATION FOR THE SPSS BASIC SYSTEM
ORDER FROM SPSS INC. 3
REL. 7, P. 5)
SPSS INTRUDUCTORY GUIDE: BASIC STATISTICS AND OPERATIONS
SPSS PRIMER (BRIEF INTRO TO SPSS)

DEFAULT SPACE ALLOCATIONS
WORKSPACE 12500 WORDS
TRANSPACE 2500 WORDS
ALLIOMS FOR...
50 TRANSFORMATIONS
400 RECORD VALUES
1000 IF/COMPUTE OPERATIONS

1 PAGE SIZE
2 RUN NAME
3 VARIABLE LIST
4 INPUT PREFIX
5 INPUT FORMAT
ANALYSIS DE LOS DATOS DE LA TESIS DE ARTURO OSEJO V.
VARI TO VARI0
FIXED(1.0)F(2.0)F(3.0)F(4.0)F(5.0)F(6.0)F(7.0)F(8.0)F(9.0)F(10.0)

ACCORDING TO YOUR INPUT FORMAT, VARIABLES ARE TO BE READ AS FOLLOWS

VARIABLE	FORMAT	RECORD	COLUMNS
VARI	F 1.0	1	1
VARI2	F 1.0	1	2
VARI3	F 1.0	1	3
VARI4	F 1.0	1	4
VARI5	F 1.0	1	5
VARI6	F 1.0	1	6
VARI7	F 1.0	1	7
VARI8	F 1.0	1	8
VARI9	F 1.0	1	9
VARI0	F 1.0	1	10

THE INPUT FORMAT PROVIDES FOR 10 VARIABLES. 10 WILL BE READ
IT PROVIDES FOR 2 RECORDS (CARDS) PER CASE. A MAXIMUM OF 23 COLUMNS ARE USED ON A RECORD.

6 FRIAT FORMATS VARI TO VARI(2)
7 VAR LABELS VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
8 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
9 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
10 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
11 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
12 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
13 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
14 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
15 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
16 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
17 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
18 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
19 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /
20 VARI (CANTIDAD DE LARVAS POR CARACOL /

ANALYSIS DE LOS DATOS DE LA TESIS DE ARTURO OSEJO V. PAGE 2
VARS(C)TESTED(1)PEARF DE F.S.M.(2)MAS DE 10/
08/20/86

21 MISSING VALUE VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
22 SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
23 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
24 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
25 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
26 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
27 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
28 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
29 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)
30 *SELECT IF VARI(1)C(2)C(3)C(4)C(5)C(6)C(7)C(8)C(9)C(10)C(11)C(12)C(13)C(14)C(15)C(16)C(17)C(18)C(19)C(20)

***** ONEWAY PROBLEMS ACQUIRED 72 WORKS WORKSPACE *****

***** READING 511 CASES FROM SUBFILE NAME . END OF DATA WAS ENCOUNTERED ON LOGICAL UNIT 8

Apéndice 2. Pruebas estadísticas (ANDEVA "una vía", contraste, tests de homogeneidad de varianzas) realizadas a los resultados obtenidos al procesar especímenes de P. faliginea (sacrificados el día 24 post-infección) expuestos a diferentes dosis de larvas (L_1) de A. costaricensis por caracol (grupo 1: 200; grupo 2: 400 L_1 ; grupo 3: 600 L_1 ; grupo 4: 800 L_1 a un tiempo constante (24 horas). Las pruebas fueron proporcionadas por el paquete estadístico SPSS. Centro de Informática. Universidad de Costa Rica. 1986.

ANALYSIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ARTIFICIAL (SEJUN V.)
 FILE NAME (CREATION DATE = 08/20/86)

08/20/86

PAGE 3

VARIALES VARS CARACTER DE LAS VARIACIONES
 BY VARIABLES VARS POSICION DE LAS VARIACIONES

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	D.F.	SUM OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	F PROB.
BETWEEN GROUPS	3	19565.7567	6521.9322	2.795	0.0507
LINEAR TERM (UNREPLICATED)	1	16314.6720	16314.6720	6.952	0.0112*
LINEAR TERM (REPLICATED)	2	1854.1883	927.0941	0.395	0.6700*
QUAD. TERM (UNREPLICATED)	1	571.6284	571.6284	0.240	0.6212*
QUAD. TERM (REPLICATED)	1	937.2856	937.2856	0.400	0.5292
DEV. FROM CURVE	1	970.2330	970.2330	0.410	0.5222
WITHIN GROUPS	46	107331.8833	2333.2014	0.001	0.9806
TOTAL	49	126897.6800			

GROUP	COUNT	MEAN	STANDARD DEVIATION	STANDARD ERROR	MINIMUM	MAXIMUM	95 PCT CONF INT FOR MEAN
FF01	12	41.2500	34.5378	12.2240	6.0000	104.0000	16.3624 10
FF02	12	50.0833	36.3312	10.2400	1.0000	101.0000	16.2824 10
FF03	12	60.4167	50.4450	13.6240	0.0000	184.0000	19.1978 10
FF04	12	53.8333	58.5623	15.2240	0.0000	225.0000	61.2144 10
TOTAL	50	66.5200	50.6856	7.1969	0.0000	225.0000	52.4573 10

2.85 3.55 3.05

THE RANGES ABOVE ARE THE RANGES. THE VALUE ACTUALLY COMPARED WITH MEAN(J)-MEAN(I) IS..

POPULACIONES SUELOS (SUELOS DE GRUPOS, AUSE FICHERO AL LOWEST MEANS DO NOT DIFFER BY MORE THAN THE SHORTEST SIGNIFICANT RANGE FOR A SUBSET OF THAT SIZE)

SUBSET 1

GROUP CRFOJ LFFOJ (FFOJ
MEAN 41.2500 50.0813 67.1111

SUBSET 2

GROUP LFFOJ
MEAN 67.1111 93.8887

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ANTERO CSEJO V.

FILE PCNAME (CREATION DATE = 08/20/88)

BY VARJAELE VAR4 CANTIDAD DE LARVAS ENCONTRADAS
VAR1 ECISIS DE LARVAS POR CARACOL

MULTIPLE RANGE TEST

TUKEY-FSD PROCEDURE
RANGES FOR THE 0.050 LEVEL -

3.77 3.77 3.77

THE RANGES ABOVE ARE THE RANGES. THE VALUE ACTUALLY COMPARED WITH MEAN(J)-MEAN(I) IS..

NO TWO GROUPS ARE SIGNIFICANTLY DIFFERENT AT THE 0.050 LEVEL

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ANTERO CSEJO V.

TRANSFORMATIONS

2 TRANSFORMATIONS
0 RECIFE VALUES
E IF/COMPUT OPERATIONS

08/20/88 PAGE 6

08/20/88 PAGE 7

Apéndice 3. Pruebas estadísticas (ANDEVA "una vía", contraste, tests de homogeneidad de varianzas) realizadas a los resultados obtenidos al procesar especímenes de P. faliginea (sacrificados el día 24 post-infección) a una dosis constante (400 L₁/caracol), pero variando los tiempos de exposición (grupo 1: 24 horas, grupo 2: 48 horas, grupo 3: 72 horas) a larvas (L₁) de A. costaricensis. Las pruebas fueron proporcionadas por el paquete estadístico SPSS. Centro de Informática. Universidad de Costa Rica. 1986.

CPL TIME RECLIN... 3.28 SECONDS

31 *SELECT IF (VAR10 FC 2)
32 UNWAY VAR2 (1,3)
33 POLYNOMIAL = 2
34 CONTRAST = 2
35 RANGES=UNCAN(.05)/RANGE=TLKEY(-05)
36 ALL

***** ONEWAY PROCEDURE REQUIRES 48 KBYTES WORKSPACE *****

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ANOVA (SEJIC A)

FILE NAME (CFRACION DATE = 08/20/86)

BY VARIABLE VAR2 CANTIDAD DE LARVAS FRENTRACIAS

BY VARIABLE VAR2 TIEMPO DE EXPOSICION

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	D.F.	SUM OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	F PROB.
ERROR	2	2388.368	1194.184	1.298	0.2797
LINEAR TERM (UNWEIGHTED)	1	1500.9381	1500.9381	2.066	0.1552
LINEAR TERM (WEIGHTED)	1	1981.8029	1981.8029	2.124	0.1496
DEVIATION FROM LINEAR	1	737.5652	737.5652	0.472	0.4942
WITHIN GROUPS	68	62555.3784	919.9320		
TOTAL	70	64943.7465			

GROUP	COLN	MEAN	STANDARD DEVIATION	STANDARD ERROR	MINIMUM	MAXIMUM	95 PCT (CNF)	INT FOR MEAN
GROUP 1	21	45.3333	35.5406	7.7556	5.0000	145.0000	22.1555	10
GROUP 2	27	27.6455	28.6057	5.5055	6.0000	125.0000	36.5342	10
GROUP 3	23	36.1739	26.9775	5.6252	6.0000	115.0000	24.5080	10
TOTAL	71	44.5070	36.4552	3.6145	6.0000	145.0000	37.2974	10
FIXED EFFECTS MODEL			30.3304	3.5956			37.3242	10
RANDOM EFFECTS MODEL				4.1050			26.8271	10

08/20/86 PAGE 8

RANDEP EFFECTS MODEL - ESTIMATE OF BETWEEN COMPONENT VARIANCE 11.052E

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA TESIS DE ARTURO OSEJO V.
FILE PCNAME (CREATION DATE = 08/20/86)

08/20/86 PAGE 5

VARIABLE VAR4 CANTIDAD DE LARVAS ENCONTRADAS
BY VARIABLE VAR2 TIPO DE EXPOSICION

CONTRAST COEFFICIENT MATRIX

CRF01 CRF02 CRF03

CONTRAST 1 -2.0 1.0 1.0

CONTRAST	VALUE	S. T. DIFF	POOLED VARIANCE ESTIMATE C.F.	T. PROB.	S. ERROR	SEPARATE VARIANCE ESTIMATE C.F.	T. PROB.
1	-14.6409	15.7850	-0.927	0.357	17.3841	-0.842	30.8
			0.0				0.406

TESTS FOR HOMOGENEITY OF VARIANCES

GREENS C = MAX. VARIANCE/SLM(VARIANCE(S)) = 0.4456, F = 0.222 (APPROX.)
EARLETT-RC) F = 0.907, F = 0.404
MAXIMUM VARIANCE / MINIMAL VARIANCE = 1.72E

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA TESIS DE ARTURO OSEJO V.
FILE PCNAME (CREATION DATE = 08/20/86)

08/20/86 PAGE 10

VARIABLE VAR4 CANTIDAD DE LARVAS ENCONTRADAS
BY VARIABLE VAR2 TIPO DE EXPOSICION

MULTIPLE RANGE TEST

DUNCAN PROCEDURE
RANGES FOR THE 0.050 LEVEL -

2.82 2.57

THE RANGES ABOVE ARE TABLE RANGES. THE VALUE ACTUALLY COMPARED WITH MEAN(J) = MEAN(I) IS...

FORCENED SUBJECTS (SUBSETS OF GROUPS WHOSE HIGHEST AND LOWEST MEANS DO NOT DIFFER BY MORE THAN THE SHORTEST SIGNIFICANT RANGE FOR A SELECTION TEST SIZE)

SUBSET :
GROUP 08/20/86
MEAN 47.8519
CPL 45.3312

ANALYSIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ANTONIO GUSJO V. 08/20/86 PAGE 11

FILE NAME (OPERATION DATE = 08/20/86)

VARIABLE VAF2 CANTIDAD DE LARVAS ENCONTRADAS
BY VARIABLE VAF2 TIEMPO DE EXPOSICION

MULTIPLE RANGE TEST

TUKEY-PSD PROCEDURE
RANGES FOR THE 0.050 LEVEL

2.35 3.35

THE RANGES ABOVE ARE TABLE RANGES. THE VALUE ACTUALLY COMPARED WITH MEAN(J)-MEAN(I) IS..
21.468 * RANGE = SORT(I/N(I)) * 1/N(J)

NO TWO GROUPS ARE SIGNIFICANTLY DIFFERENT AT THE 0.050 LEVEL

ANALYSIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE ANTONIO GUSJO V. 08/20/86 PAGE 12

TRANSFORMATIONS REQUIRED.. 50 BYTES

1 TRANSFORMATIONS
3 REQUIRED VALUES AND VARIABLES

CPL TIME REQUIRED.. 1-23 SECONDS

37 * SELECT IF (VAR10 EQ 3)
38 * CMEWAY VAR4 BY VARS(1-2) /
39 * P(LYAN(1) = 1)

40
41
42 STATISTICS ALL

Apéndice 4. Pruebas estadísticas (ANDEVA "una vía", contraste, tests de homogeneidad de varianzas) realizadas a los resultados obtenidos al procesar especímenes de P. faliginea (sacrificados el día 24 post-infección), ubicados en uno de dos ámbitos de tamaño (grupo 1: 5.5-8.5 mm; grupo 2: 10.0-13.5 mm), expuestos a un tiempo y a una dosis de larvas (L₁) de A. costaricensis constante. Las pruebas fueron proporcionadas por el paquete estadístico SPSS. Centro de Informática. Universidad de Costa Rica. 1986.

22 MISSING VALUE
 23 ONEWAY
 24 STATISTICS
 26

***** DATA FILE FOR REGRES 22 WORKSPACE *****

AFTER READING 40 CASES FROM SUBFILE NOMINA 1 END OF DATA HAS ENCOUNTERED ON LOGICAL UNIT 2 8

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA PRUEBA DE LA TESIS DE ARTURO DEL JU V.
 FILE NAME CREATION DATE = 08/29/86

08/29/86 PAGE 3

VARIABLE VAR4 CANTIDAD DE LARVAS ENCOTRADAS
 BY VARIABLE VAR9 EDAD

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	D.F.	SUM OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	F PROB.
BETWEEN GROUPS	1	5960.8685	5960.8685	6.181	0.0243
WITHIN GROUPS	16	40313.5556	2582.0972		
TOTAL	17	46274.4241			

GROUP	COUNT	MEAN	STANDARD DEVIATION	STANDARD ERROR	MINIMUM	MAXIMUM	95 PCT CONF INT FOR MEAN
GRPO2	9	41.6667	32.6650	10.8883	9.0000	105.0000	16.5582 TO 66.7752
GRPO2	9	101.2222	64.0093	21.3364	57.0000	259.0000	52.0203 TO 150.4241
TOTAL	18	71.4444	50.0434	13.6011	9.0000	259.0000	42.5799 TO 100.3090
FIXED EFFECTS MODEL			50.8143	11.9771			46.0542 TO 96.8347
RANDOM EFFECTS MODEL				29.7778			306.9180 TO 449.6068

RANDOM EFFECTS MODEL - ESTIMATE OF BETWEEN COMPONENT VARIANCE 1486.5324

TESTS FOR HOMOGENEITY OF VARIANCES

COCHRAN'S C = MAX. VARIANCE/SUM(VARIANCES) = 0.7034, P = 0.075 (APPROX.)
 BARTLETT-BOX F = 3.187, P = 0.075

Apéndice 5. Coeficientes de correlación de Pearson para 4 variables (var. 5: longitud total de caracol; var. 6: grosor de la espira corporal; var. 7: longitud de la abertura; var. 8: grosor de la abertura) medidas en especímenes de P. faliginea. Las pruebas fueron proporcionadas por el paquete estadístico SPSS. Centro de Informática. Universidad de Costa Rica. 1986.

MISSING VALUE
 SELECTIVE
 REVERSE CODE
 VARS 1-24
 VARS 25-50
 EXP. VARS 51-99

PEASON CORP PROBLEM REQUIRES 3E WORDS WORKSPACE *****

AFTER READING 509 CASES FROM SUBFILE NUMBER 1, END OF DATA WAS ENCOUNTERED ON LOGICAL UNIT 2 8

08/29/86 PAGE 3

ANALYSIS OF LOS DATOS DE LA TESIS DE FORTUO USUJO V.

FILE NAME (CREATION DATE = 08/29/86)

----- PEASON CORP L I T I O N C O E F F I C I E N T S -----

VAR5	VAR6	VAR7	VAR8
1.0000 (.228) P=*****	1.0455 (.228) P=0.000	0.9369 (.228) P=0.000	0.8437 (.228) P=0.000
0.9422 (.228) P=0.000	1.0000 (.228) P=*****	0.5520 (.228) P=0.000	0.3471 (.228) P=0.000
0.9369 (.228) P=0.000	0.9422 (.228) P=0.000	1.0000 (.228) P=*****	0.8437 (.228) P=0.000
0.8437 (.228) P=0.000	0.3471 (.228) P=0.000	0.8437 (.228) P=0.000	1.0000 (.228) P=*****

(COEFFICIENT / (CASES) / SIGNIFICANCE) (A VALUE OF 99.0000 IS PRINTED IF A COEFFICIENT CANNOT BE COMPUTED)

08/29/86 PAGE 4

ANALISIS DE LOS DATOS DE LA TESIS DE ARTUJO USUJO V.

WORKSPACE REQUIRED 450 WORDS
 1 TRANSFORMATIONS
 6 RECORD VALUES, 168 VARIABLES
 3 IF/COMPUTE OPERATIONS

CPU TIME REQUIRED 4.40 SECONDS

25 FINISH

USAGE DATA FILE IS EMPTY OR DUMMY
 NOTIFY YOUR SPSS COORDINATOR OF THIS ERROR.

