

CATEDRA DE PARASITOLOGIA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Profesor Encargado de Parasitología: Dr. MIGUEL CORDERO

**ESTUDIOS SOBRE EIMERIA FALCIFORMIS (EIMER,
1870) PARASITO DEL RATON**

I. OBSERVACIONES SOBRE EL PERIODO PRE-PATENTE, ESPORULACION, MORFOLOGIA DE LOS OOQUISTES Y ESTUDIO BIOMETRICO DE LOS MISMOS, PRODUCCION DE OOQUISTES Y PATOGENICIDAD (1)

Por el Dr. M. Cordero del Campillo

Gracias al gran número de publicaciones sobre las investigaciones llevadas a cabo en las coccidiosis aviares, estas enfermedades son bien conocidas. Por el contrario, las de los mamíferos no se comprenden tan bien y carecemos de información sobre muchos aspectos. La causa principal es la limitación que lleva aparejada la experimentación con grandes animales. Como resultado de todo, tratamos de aplicar nuestros conocimientos sobre las coccidiosis de las aves a las de los mamíferos, lo cual no siempre es correcto, ya que aves y mamíferos, aunque con algunas propiedades fisiológicas comunes, no cabe duda que difieren considerablemente en otros aspectos. Esta consideración nos llevó a investigar la coccidiosis del ratón, con objeto de averiguar si es posible

(1) Esta investigación se ha llevado a cabo en el Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, Inglaterra, con auxilio de una beca del Ministerio de Educación Nacional y una bolsa de la Asociación del Cuerpo Nacional Veterinario.

emplear este animal en el estudio experimental de quimioterápicos. En caso positivo supondría un método barato y fácilmente practicable en el laboratorio.

Las coccidiosis de los ratones no han merecido mucha atención. El primer coccidio descrito en el ratón fué *Eimeria falciformis* (EIMER, 1870¹). Dos nuevas especies, *Cryptosporidium muris* TYZZER, 1907 y *Cryptosporidium parvum* TYZZER, 1912 se dieron a conocer años más tarde². En 1932 GALLI-VALERIO³ descubrió *Eimeria muris* y seis años más tarde YAKIMOFF y GOUSSEFF⁴ señalaron el hallazgo de *E. musculi*, *E. schüffneri*, *E. kriiggsmanni*, *E. keilini* y *E. hindlei*. En el cuadro I ofrecemos la información existente antes de realizado este trabajo⁵⁻⁶. De hecho, en la mayoría de los casos la descripción de todas las especies, excepto *E. falciformis*, se ha basado en aspectos morfológicos de los ooquistes, habiéndose estudiado solamente unos pocos ejemplares. Según la mayoría de los protozoólogos, es bastante arriesgado realizar diagnósticos basados exclusivamente en las medidas de los ooquistes, a menos que posean algún detalle morfológico o fisiológico evidente, o se realice un estudio biométrico. Por lo que respecta a las especies de *Eimeria* parásitas del ratón, hay varios problemas que dilucidar.

En este trabajo estudiaremos:

- a) Período prepatente.
- b) Esporulación.
- c) Morfología del ooquiste y estudio biométrico del mismo.
- d) Producción de ooquistes.
- e) Datos sobre patogenicidad, como base para estudios más detallados.

MATERIALES Y METODOS

En estos experimentos empleamos ratones blancos libres de coccidios. Se alimentaron con grano de trigo y gránulos comerciales. Todos los alimentos se esterilizaron a 90° C en un horno de Pasteur. Los animales se alojaron en jaulas de alambre galvanizado, que se esterilizaron al autoclave (120° C durante 20 minutos) y se colocaron sobre bandejas con baño de porcelana y unos 15 c. c. de solución de bicromato potásico al 2 por 100. Las heces pasaban a través del fondo de malla de la jaula y caían en la solución. Todo ello se colocaba dentro de un

recipiente mayor y la parte superior quedaba tapada con malla de alambre cubierta con gasa de la usada en quesería. Cuando se iba a determinar el número de ooquistes por g. de heces, no se colocaba ninguna solución en la bandeja.

Los coccidios utilizados en estos experimentos nos fueron cedidos por el Department of Parasitology del Central Veterinary Laboratory in Weybridge (Inglaterra). Como trabajamos con una sola especie, no consideramos necesario recurrir a la técnica del quiste único.

Los ratones se dividieron en grupos. En el grupo I se infectaron cuatro ratones con 55.000 ooquistes esporulados *per capita*. Este lote fué usado para determinar el período de prepatencia, tiempo de esporulación y estudios biométricos. A los 37 días, cada ratón recibió 100.000 ooquistes esporulados, comparándose los resultados con los del grupo II (3 ratones) que recibieron una dosis similar. Los grupos III (2 ratones que recibieron 500.000 ooquistes), IV (12 ratones infectados con 755.000 ooquistes esporulados) y V (4 ratones infectados con 2 millones de ooquistes esporulados) se emplearon para estudios microscópicos de las fases hísticas del parásito y se observaron clínicamente y *post-mortem*. Aunque estamos estudiando los resultados, daremos alguna información en esta publicación.

Se recogieron diariamente las heces y los ooquistes se concentraron siguiendo las técnicas coprológicas de Weybridge, combinando la centrifugación a 1.500 r. p. m. con la flotación en solución saturada de cloruro sódico. Finalmente, se lavaron varias veces en agua corriente mediante centrifugación y decantaciones sucesivas. El sedimento se estudió para determinaciones del tiempo de esporulación. No obstante, cuando se estudió el período de pre-patencia, se investigaron las heces a partir del 4.^o día post-infección cada 12 horas.

La esporulación se estudió en solución de bicromato potásico el 2 por 100 en placa en Petri y a la temperatura del laboratorio, que se anotaba con intervalos de 12 horas. Este mismo período servía para tomar las muestras y estudiar la marcha del proceso con objetivo de inmersión, a fin de conocer cuándo se habían desarrollado los esporozoítos en el interior de los esporocistos. Para la determinación del porcentaje de esporulación siempre se estudiaron 300 ooquistes.

Las determinaciones cuantitativas de ooquistes se realizaron por el método de McMaster, modificado en Weybridge (*loc. cit.*).

Tanto la longitud como la anchura de los ooquistes se estudiaron

a inmersión por medio del micrómetro ocular, siendo el valor de cada división 1,5 micras. Este mismo fué el intervalo para la agrupación de clases.

No se hizo ninguna selección de ooquistas. Se midieron según aparecían en el campo microscópico. Unicamente se tomó la precaución de tocar ligeramente con la punta de una aguja de disección en el cubreobjeto, a fin de que se apoyaran sobre su eje longitudinal paralelamente al portaobjeto. Siempre que fué posible se midieron 100 ooquistas, excepto en el primer día del período de patencia, en el que solamente se encontraron unos pocos. En el grupo I, a partir de los doce días se mezclaron las heces producidas en dos días y se estudiaron morfológicamente los ooquistas, a causa de la escasez de los mismos. En total se midieron 1.527.

El índice morfológico se calculó según la fórmula L:A.

Las determinaciones biométricas incluyeron el cálculo de la media (M), desviación típica (DT), coeficiente de variabilidad (CV) y error típico (ET) y se realizaron diariamente, así como para el total de ooquistas estudiados. Las fórmulas empleadas fueron las usuales (CUENCA⁵).

Las estructuras endoquísticas fueron estudiadas antes y después de la esporulación, pero no se consideró necesario un estudio estadístico. Sin embargo, se realizaron algunas mediciones del corpúsculo refringente esporocístico y del cuerpo residual.

Se anotó el consumo de alimentos y la producción de heces, pero sin observarlos desde un punto de vista métrico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Período de prepatencia.—Constantemente se comprobó que era de cinco días, siendo eliminados los primeros ooquistas en las heces del sexto día. El número de ooquistas eliminados en las heces en el primer día del período de patencia fué siempre muy bajo. Esto puede justificar el que se haya descrito el período de prepatencia entre 5-6 días (WENYON¹) mientras que BECKER², posteriormente, señaló los cinco días para completar el ciclo intraorgánico del coccidio. En realidad, en ambos casos (grupo I y II) fué necesario estudiar las heces concentradas

durante varias horas para encontrar solamente algunos ooquistas. De hecho, solamente encontramos 27 tras 10 horas de investigación en el grupo I. Los estudios histológicos ahora en curso demuestran que en este día existen gran número de gametocitos, pero raramente se encuentran ooquistas en el intestino.

Esporulación.—A la temperatura del laboratorio (entre 22-24° C), se encontró siempre un período de tres días, lo cual concuerda con los datos ofrecidos por otros autores. Los porcentajes de esporulación observados en tres muestras diferentes fueron del 68,8, 76,7 y 77,0.

Morfología del ooquiste.—Se comprobó siempre que los ooquistas son regularmente elipsoidales, incoloros y con superficie lisa. No se observó la presencia de micropilo. En los esporulados, y a veces también en los no esporulados, se comprobó la existencia de un corpúsculo refringente. A veces se hallaron dos, pero raramente. Su forma es cilíndrica, pero su apariencia puede ser bacilar o circular, según su posición. La localización es inconstante, pero en general se hallaron periféricamente en la zona de mayor latitud del ooquiste. Eran lisos, de tres micras de diámetro y 1,5 de altura. En ningún caso pudimos comprobar el cuerpo residual esporoblástico que WENYON (*op. cit.*) describe como "inconstante".

Los esporoblastos eran grandes y daban origen a dos esporocistos ovoides, de 10,5-12,0 micras por 6,0-7,5. En una prolongación a modo de cuello de botella, poseían un evidente micropilo. Contenían dos esporozoítos y un cuerpo residual voluminoso, subesférico, de superficie grosera y dimensiones de 4,5-5,5 x 3,5-4,5 micras. El referido cuerpo residual se hallaba localizado en posición centro-lateral. En la parte más ancha del esporozoíto existía un gran cuerpo subesférico, refringente y liso, de tres micras de diámetro.

Estudio biométrico.—En el cuadro II se resumen los resultados relativos a la longitud de los ooquistas. Los valores oscilaron entre 15,0-25,5 micras. La distribución de frecuencias dió una curva unimodal ligeramente truncada (Gráfico 1). Estudiados biométricamente (Cuadro III) las medias oscilaron entre 18,55-22,43 según los días analizados, siendo la de todo el período 21,19 micras. Comparando los valores diarios se apreció que los ooquistas crecieron evidentemente desde el primer día, alcanzando su máxima longitud al quinto. Luego disminuyó hasta el séptimo día y posteriormente siguió en torno a la línea media. Más tarde descendió el día once y luego permaneció

varios días cerca de la M. Al final de nuestro período de observación se notó un ligero aumento.

La DT osciló en $\pm 1.21-1.85$, con un valor medio de ± 1.58 .

Los CV extremos fueron 5,56-8,55 y el medio determinado sobre el total de ooquistas 7,45.

El ET varió entre 0,12-0,29 siendo 0,04 el hallado para los 1.527 ooquistas considerados en conjunto.

Parece ser que el día más representativo para los valores de longitud fué el cuarto, no sólo porque su M fué próxima al promedio observado, sino también porque en este día se hallaron los valores más bajos para la DT y, consecuentemente, para el CV y el ET.

En el cuadro IV se reunen los resultados obtenidos para la anchura. Las variantes extremas fueron 13,5-24,0 micras y la curva de distribución de frecuencias fué casi simétrica (Gráfico I). Considerando los datos biométricos (Cuadro V) observamos que los valores de la M variaron entre 15,58-19,36 micras, con un promedio de 18,09. Evidentemente, como para la longitud, los valores cambiaron rápidamente, creciendo desde el primer día hasta el sexto. Disminuyeron en el séptimo en torno al promedio y alcanzaron un descenso el día once. A partir de este día continuaron en torno a la M, pero al final del período de observación se apreció un ligero aumento.

Como vemos, longitud y anchura sufrieron idénticas modificaciones, pero su correlación no fué estricta, especialmente entre los días 5-7. Esto justifica las modificaciones del índice morfológico.

Los valores extremos para la DT fueron $\pm 1.20-1.75$ y el promedio fué ± 1.61 . Los CV oscilaron entre 6,34-9,96 (media 8,94). El ET fué de 0,12-0,29 según los días y de 0,04 para la totalidad de los ooquistas.

Como ocurrió con la longitud, los valores más representativos se obtuvieron el cuarto día. Resultados similares pueden deducirse estudiando los datos de BECKER *et al.*¹⁰ para *E. necatrix*. En su trabajo las dimensiones medias fueron $19,59 \times 16,63$ micras y las observadas los días 9-10 (tercero y cuarto del período patente) fueron $19,55 \times 16,64$ y $19,65 \times 16,93$ micras respectivamente.

El índice morfológico varió entre 1,14 y 1,20 (media 1,17) (Cuadro VI).

Si comparamos los resultados obtenidos por nosotros con los publicados con anterioridad por otros, observamos que nuestras cifras son más altas ($21,19 \times 18,9$ micras, IM 1,17 frente a $18,5 \times 14,0$ micras, IM 1,32). Los resultados más parecidos son los de los primeros días del período de patencia. Esto demuestra una vez más la necesidad de estudiar un número relativamente elevado de ooquistas si se quiere obtener resultados representativos¹⁰. Como hemos visto, las dimensiones de los ooquistas variaron de un día a otro, lo cual ha sido descrito también por BECKER *et al.* para *E. brunetti*¹¹ y *E. necatrix*¹⁰. Los mismos autores apreciaron variaciones entre un animal y otro. JONES¹² vió que el tamaño de los ooquistas producidos dependía de la intensidad de la infección, señalando que eran mayores cuando la infección era leve. CHEISSIN¹³⁻¹⁴ llegó a la misma conclusión estudiando los coccidios del conejo. El tamaño disminuía cuando la dosis infectante se aumentaba. Debe tenerse en cuenta que el tamaño de los ooquistas varía: 1) Segundo el día de la infección. 2) Por variaciones de cepa o raza. 3) Por influencia del hospedador. 4) Segundo la dosis infectante, y 5) por influencia de la reinfección. Por lo tanto, si consideramos que todas estas variables pueden combinarse en proporciones diversas, seguramente nos daremos cuenta de la dificultad de señalar las dimensiones "ideales" de los ooquistas de una especie coccidiana determinada. Probablemente estaremos de acuerdo con TYZZER sobre "la falacia corriente de diferenciar las especies basándose en la medida de los ooquistas" y con JONES¹², quien afirmó que el tamaño solamente es útil cuando se mide un elevado número de ooquistas. Evidentemente, la validez de *Eimeria muris*, *E. musculi*, *S. schüffneri*, *E. krigsmanni*, *E. keilini* y *E. hindlei* es bastante cuestionable hasta que dispongamos de más información sobre sus datos métricos y ciclo vital en el hospedador.

Producción de ooquistas.—Los experimentos llevados a cabo para determinar la producción de ooquistas (Grupo II) demostraron que entre los días 3 al 6 se producía una enorme cantidad, alcanzándose el mayor valor en el cuarto día del período de patencia. Seguidamente su número disminuyó y dió la cifra más baja en el día doce. Once días más tarde se apreció un nuevo incremento tardío, pero sin alcanzar los valores previos. En realidad alcanzó aproximadamente 1/10 del valor máximo previo. Finalmente, el número disminuyó y al final del experimento se observó un ligero incremento. Según JOYNER¹⁵, también se ha observado una marcha parecida en *E. mitis* experimentalmente. Pa-

rece ser que la producción de ooquistas sigue un ciclo ondulante, siendo cada vez menor el valor máximo alcanzado para cada serie. Como ya indicaron NIESCHULZ y Bos¹⁷ la producción máxima de ooquistas se alcanzó entre los días 6 y 12 (Cuadro VII).

Comparando estos datos con los resultados apreciados en los ratones reinfectados (Grupo I) observamos que se ha desarrollado un cierto grado de inmunidad. Entre los días 10-17 el examen con el método McMaster dió resultados negativos a causa del escaso número de ooquistas producidos, pero la concentración de todas las heces producidas en el día nos permitió observar algunos. En los días 18-19 los resultados fueron absolutamente negativos. Esto sugiere que tras la ingestión de dosis relativamente pequeñas de ooquistas infectantes, puede desarrollarse una fuerte resistencia que dejaría a los ratones razonablemente protegidos.

Poder patógeno.—Los ratones infectados con 55.000 ooquistas esporulados (Grupo I) no manifestaron síntomas clínicos. Uno de ellos fué hallado muerto a las 24 horas, pero en la necropsia no pudo demostrarse que hubiera sido la causa la coccidiosis. Cuando se reinfectaron con 100.000 tampoco mostraron signos de enfermedad. No obstante, los ratones del grupo II, que habían recibido una dosis de 100.000 ooquistas esporulados como primo-infección, perdieron apetito y eliminaron menor cantidad de heces durante los primeros días de la infección. Aunque no se observó diarrea, las deposiciones eran blandas. A partir del día doce el apetito y la normalidad se restablecieron. Similares resultados dieron los grupos III y IV. Los del grupo V enfermaron a las 24 horas y una de ellas murió hacia las 50 horas post-infección. Los restantes se sacrificaron a intervalos de 24 horas, observándose en la necropsia hemorragias macroscópicas en el intestino grueso, justificativas de la eliminación de heces diarréicas hemorrágicas observada en vida. El estudio microscópico del tracto digestivo será descrito en otro trabajo.

De nuestros experimentos no puede obtenerse una conclusión definitiva sobre el poder patógeno de *E. falciformis*, pero podemos estar razonablemente seguros de que es bajo, como ya ha sido indicado por LAPACE¹⁸. Esto representa un inconveniente grave para emplear al ratón en ensayos terapéuticos con quimioterápicos. Probablemente, la dosis infectante óptima es un millón de ooquistas esporulados.

RESUMEN

Los estudios realizados sobre *Eimeria falciformis* revelaron que necesita un período de prepatencia de cinco días. La esporulación se realiza en tres días a temperaturas de 22-24° C y el porcentaje de esporulación fué de 68,8-77,0. La morfología de los ooquistas es la siguiente: elípticos, incoloros y con superficie lisa. No poseen micropilo oocístico. En la parte más ancha del ooquiste pueden hallarse uno o dos corpúsculos refrigerantes de tres micras de diámetro y 1,5 de altura. No hay cuerpo residual esporoblástico. Los esporocistos miden 10,5-12 × 6,0-7,5 micras y poseen un micropilo evidente. Hay un cuerpo residual esporocístico, subesférico de 4,5-5,5 × 3,5-4,5 micras. Los esporozoitos poseen un cuerpo refringente, liso, subesférico de 3 micras de diámetro.

Los ooquistas no esporulados en una infección leve pueden oscilar entre 15,0-25,5 micras de longitud, 13,5-24,0 de anchura y un índice morfológico de 1,14-1,20. Las curvas de distribución de frecuencias son casi simétricas y unimodales.

El tamaño medio observado entre 1.527 ooquistas no esporulados estudiados diariamente durante un período de 20 días fué de 18,55-22,43 micras de longitud (DT \pm 1,21-1,85; CV 5,56-8,55 y ET 0,12-0,29). En cuanto a la anchura las cifras medias variaron entre 15,58-19,36 micras (DT \pm 1,20-1,75, CV 6,34-9,96 y ET 0,12-0,29).

Los valores medios "ideales" de un ooquiste serán probablemente 21,19 \pm 1,58 × 18,09 \pm 1,61 e índice morfológico 1,17. Pero se observó una clara tendencia al aumento de tamaño desde el primer día del período de patencia hasta el 5-6°. Posteriormente, el tamaño disminuyó hasta los valores medios durante varios días, con ligeras variaciones. No hay una correlación demasiado estricta entre la anchura y la longitud, lo que aclara las variaciones apreciadas en el índice morfológico.

El cuarto día del período de patencia ha sido el más representativo.

Estos datos sugieren, como ya indicaron TYZZER, BECKER *et al.*, la necesidad de estudiar un número elevado de ooquistas eliminados en diversos días, si se pretenden obtener valores representativos.

La producción de ooquistas siguió un ciclo ondulante con períodos de unos once días y tendencia decreciente. Nuevamente, el número más elevado de ooquistas se eliminó el día cuarto. En los ratones reinfectados ha podido observarse una inmunidad relativamente inten-

sa. Los experimentos sobre el poder patógeno, aunque no de un modo definitivo, indican que la dosis infectante óptima para estudios experimentales es un millón de ooquistes esporulados. La patogenicidad de *E. falciformis* parece ser baja.

RESUMÉ

Les études sur *Eimeria falciformis* ont démontré que la période pré-patente de cette espèce est de 5 jours. La sporulation s'est complétée en 3 jours à 22-24° C. et le pourcentage de sporulation a oscillé entre 68,8-77,0. La morphologie des ookystes a été: elliptiques, incolores, avec surface lisse. Sans micropyle. Un ou deux corps réfringents, cylindriques, situés périphériquement sur la partie la plus large du ookyste, de trois microns de diamètre et de 1,5 de hauteur. Absence de corps résiduel sporoblastique. Sporocysts de 1,05-12,0 x 6,0-7,5 microns, avec un micropyle évident. Corps résiduel sporocystique presque sphérique, de 4,5-5,5 \times 3,5-4,5 microns. Sporozoïtes avec un corps réfringent, lisse, sphérique, de 3 microns de diamètre.

Les ookystes non sporulés dans de légères infections peuvent avoir une longueur de 15,0-25,5 microns, une largeur de 13,5-24,0 et un indice morphologique (longueur / largeur) de 1,14-1,20. Les courbes de distribution de fréquences ont été unimodales et presque symétriques.

L'oscillation de la taille moyenne de 1.527 ookystes étudiés en une période de 20 jours a été de 18,55-22,43 microns de longueur (déviation standard \pm 1,21-1,85, coefficient de variation 5,56-8,55 et erreur standard 0,12-0,29). En ce qui concerne la largeur, les oscillations moyennes ont été 15,58-19,96 et erreur standard 0,12-0,29.

Les valeurs moyennes pour un ookyste "idéal" seraient probablement de : 21,19 \pm 1,58 \times 18,09 \pm 1,61 et l'indice morphologique de 1,17. Mais on a observé une nette tendance à augmenter la taille à partir du premier jour de la période patente jusqu'au 5^o-6^o jour. Postérieurement la taille descend vers des valeurs moyennes durant plusieurs jours, avec de légères variations. Il n'existe pas une corrélation stricte entre la longueur et la largeur, ce qui explique les variations de l'indice morphologique.

On considère comme plus représentatif le 4^o jour de la période patente.

Ces faits supplérent, comme l'ont déjà indiqué Tyzzer Becker et d'autres, la nécessité d'étudier de nombreux spécimens de ookystes, durant des jours différents, pour obtenir des valeurs représentatives.

La production de ookystes a démontré qu'elle suivait un type cyclique composé de périodes d'environ 11 jours, avec une tendance décroissante. De même le plus grand nombre de ookystes s'est produit le 4^o jour. On a observé une immunité relativement grande chez les souris réinfectées.

Les expériences sur le pouvoir pathogène, bien que non définitives, indiquent que la dose infectante optimale peut être de 1 million de ookystes sporulés. Le pouvoir pathogène de *Eimeria falciformis* semble être bas.

S U M M A R Y

Studies on *Eimeria falciformis* revealed a 5 day prepatent period. Sporulation was accomplished in 3 days at 22-24° C and the percentage of sporulation was observed to be 68.8-77.0. Oocyst morphology was as follows: elliptical, colourless and with a smooth surface. No micropile. One or two cylindrical, refringent bodies peripherally located in the widest part of the oocyst, 3 microns in diameter and 1.5 microns in height. No sporoblastic residual body. Sporocysts 10.5-12.0 \times 6.7-7.5 microns with conspicuous micropile. Sporocystic subespherical, residual body, 4.5-5.5 \times 3.5-4.5 microns. Sporozoites with a large refringent, smooth, spherical body, 3 microns in diameter.

Unsporulates oocysts of *Eimeria falciformis* in a mild infection may have a length range from 15.0-25.5 microns, width range from 13.5-24.0 microns and a shape index (length/width) from 1.14-1.20. The distribution or frequency curves were unimodal and almost symmetrical.

The average size range found for 1.527 oocysts studied daily in a 20 day period, were 18.55-22.43 for length (standard deviation \pm 1.21-1.85, coefficient of variation 5.56-8.55, and standard error 0.12-0.29). As for width, an average range of 15.58-19.36 microns was observed (standard deviation \pm 1.20-1.75, coefficient of variation 6.34-9.96 and standard error of 0.12-0.29).

The mean size values for an "ideal" öocytes will probably be $21.19 \pm 1.58 \times 18.09 \pm 1.61$ and shape indez 1.17. But it has been observed a definite tendency to increase in size from the days of the patent period until the 5-6th. one. Afterwards, they decrease in size to the mean value for several days, with slight variations.

The 4th day of the patent period has been found the most representative.

These data suggest, as already stated by Tyzzer, Becker *et al.* the necessity of studying numerous samples of coccysts in different days, if representative values are to be obtained.

Oöcyst production showed a wave type cycle in periods of about 11 days, with a decreasing tendency. Again, the greater number of oöcysts were produced on the 4th day. A comparativaley strong immunity has been observed in reinfected mice.

Experiments on pathogenicity, while not definite, suggest an optimum infective dose of about 1 million sporulated oocysts. Pathogenicity of *Eimeria falciformis* seems to be low.

RECONOCIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento a los Drs. S. B. KENDALL, S. F. M. DAVIES y L. P. JOYNER por el estímulo y asesoramiento que le prestaron en el curso de esta investigación. De modo similar a los Sres. PARFITT y NORTON y a la señora HAND, por su espíritu de colaboración proporcionándonos el material necesario.

CUADRO I
ESPECIES DE EIMERIA PARASITAS DEL RATON

| Caracteres | | <i>salutiformis</i> | <i>maris</i> | <i>musculi</i> | <i>schiffneri</i> | <i>Kruegmanni</i> | <i>keilini</i> | <i>lindhei</i> |
|--------------------------|--------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|
| Forma | | Elipsoidal | Ovoide con un polo afilado | Estérica | Cilíndrica | Ovoide | Elíptica con polos afilados | Ovoide |
| Superficie | Lisa | Lisa | Lisa | Lisa | Lisa | Lisa | Lisa | Lisa |
| Color | Incoloro | ? | ? | ? | ? | ? | ? | ? |
| Longitud (μ) | 16-21 | 21 | 21 | Diametro 20.74— | 18.3-26.0 | 18.3-23.18 | 24.4-31.72 | 21.96-26.84 |
| Anchura (μ) | 11-17 | 15 | 25.60 | 14.64-15.5 | 13.42-15.86 | 17.98-20.74 | 18.30-20.74 | |
| Indice morfológico (L/A) | 1.45-1.29 | 1.40 | 1.00 | 1.24-1.67 | 1.36-1.46 | 1.41-1.52 | 1.20-1.25 | |
| Micropilo | Ausente | Presente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | |
| Esporulación | 3 días | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| Cuerpo refringente | Presente | ? | Ausente | Ausente | Presente | Ausente | Presente | |
| Cuerpo residuales | | | | | | | | |
| Ooquístico | Inconstante | ? | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | |
| Esporocístico | Presente | Presente | Inconstante | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | |
| Esporocístico | Con micro- | 9 x 6 (μ) | ? | ? | ? | ? | Presente | |
| | pilo | | | | | | | |
| Periodo prepatente | 5-6 días | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| Localización | Estómago (?) | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| | intestino d. y | | | | | | | |
| | grueso | | | | | | | |
| Fases histicas | 8-30 merozol- | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| | tos (Wenyon) | | | | | | | |
| | ó 7-9 (Schau- | | | | | | | |
| | dinn) | | | | | | | |
| Poder patógeno | Escaso | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| Inmunidad | ? | ? | ? | ? | ? | ? | ? | |
| Hospedador | <i>M. musculus</i> | | | | | | | |
| | | <i>M. sylvaticus</i> | | | | | | |
| | | | <i>M. musculus</i> | | | | | <i>M. musculus</i> |

CUADRO II

RESULTADOS DE LAS MEDICIONES DE OOQUISTES DURANTE
UN PERIODO DE 20 DIAS. GRUPO I

LONGITUD

| DIA | (micras) | | | | | | | | | Núm. ooquistas |
|-------|----------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------------------|
| | 15,0 | 16,5 | 18,0 | 19,5 | 21,0 | 22,5 | 24,0 | 25,5 | | |
| 1 | 1 | 4 | 10 | 8 | 4 | 0 | 0 | 0 | 27 | |
| 2 | 0 | 0 | 15 | 19 | 38 | 28 | 0 | 0 | 100 | |
| 3 | 1 | 0 | 2 | 9 | 34 | 49 | 5 | 0 | 100 | |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 15 | 28 | 52 | 5 | 0 | 100 | |
| 5 | 0 | 1 | 2 | 6 | 32 | 43 | 15 | 1 | 100 | |
| 6 | 0 | 0 | 1 | 9 | 30 | 38 | 19 | 3 | 100 | |
| 7 | 0 | 2 | 5 | 23 | 34 | 31 | 5 | 0 | 100 | |
| 8 | 0 | 0 | 2 | 27 | 37 | 29 | 4 | 1 | 100 | |
| 9 | 0 | 1 | 6 | 25 | 36 | 28 | 4 | 0 | 100 | |
| 10 | 0 | 0 | 4 | 22 | 35 | 30 | 9 | 0 | 100 | |
| 11 | 0 | 2 | 15 | 30 | 36 | 17 | 0 | 0 | 100 | |
| 12 | 0 | 1 | 9 | 27 | 40 | 22 | 1 | 0 | 100 | |
| 13-14 | 0 | 1 | 2 | 24 | 36 | 34 | 3 | 0 | 100 | |
| 15-16 | 0 | 0 | 5 | 19 | 39 | 35 | 2 | 0 | 100 | |
| 17-18 | 0 | 0 | 4 | 21 | 37 | 26 | 11 | 1 | 100 | |
| 19-20 | 0 | 1 | 6 | 13 | 30 | 33 | 14 | 3 | 100 | |
| Total | 2 | 13 | 88 | 297 | 526 | 495 | 97 | 9 | 1.527 | |

CUADRO III

ANALISIS BIOMETRICO DE LA LONGITUD HALLADA EN
LOS OOQUISTES DE *EIMERIA FALCIFORMIS*

| Día | Media | Desviación típica | Coeficiente de variabilidad | Error típico |
|-------|-------|-------------------|-----------------------------|--------------|
| 1 | 18,55 | micras | 1,53 | 8,08 |
| 2 | 20,69 | " | 1,52 | 7,38 |
| 3 | 21,63 | " | 1,37 | 6,33 |
| 4 | 21,71 | " | 1,21 | 5,56 |
| 5 | 22,43 | " | 1,55 | 6,91 |
| 6 | 22,11 | " | 1,43 | 6,73 |
| 7 | 21,03 | " | 1,58 | 7,51 |
| 8 | 21,13 | " | 1,43 | 6,76 |
| 9 | 20,94 | " | 1,51 | 7,22 |
| 10 | 21,27 | " | 1,55 | 7,28 |
| 11 | 20,26 | " | 1,50 | 7,42 |
| 12 | 20,64 | " | 1,40 | 6,80 |
| 13-14 | 21,13 | " | 1,39 | 6,57 |
| 15-16 | 21,05 | " | 1,34 | 6,36 |
| 17-18 | 21,33 | " | 1,59 | 7,45 |
| 19-20 | 21,63 | " | 1,85 | 8,55 |

Cálculos sobre el total de ooquistas.

21,19 1,58 7,45 0,04

CUADRO IV

RESULTADOS DE LAS MEDICIONES DE OOQUISTES DURANTE
UN PERIODO DE 20 DIAS. GRUPO I

ANCHURA

| DIA | (micras) | | | | | | | | | Núm. ooquistas |
|-------|----------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------------------|
| | 13,5 | 15,0 | 16,5 | 18,0 | 19,5 | 21,0 | 22,5 | 24,0 | | |
| 1 | 1 | 15 | 5 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 27 | |
| 2 | 3 | 14 | 31 | 32 | 20 | 0 | 0 | 0 | 100 | |
| 3 | 1 | 6 | 24 | 37 | 29 | 3 | 0 | 0 | 100 | |
| 4 | 0 | 6 | 16 | 42 | 35 | 1 | 0 | 0 | 100 | |
| 5 | 0 | 3 | 7 | 29 | 42 | 19 | 0 | 0 | 100 | |
| 6 | 0 | 1 | 7 | 33 | 32 | 15 | 11 | 1 | 100 | |
| 7 | 2 | 4 | 25 | 39 | 21 | 9 | 0 | 0 | 100 | |
| 8 | 0 | 6 | 23 | 38 | 31 | 2 | 0 | 0 | 100 | |
| 9 | 2 | 2 | 22 | 44 | 26 | 3 | 1 | 0 | 100 | |
| 10 | 2 | 2 | 20 | 46 | 21 | 4 | 5 | 0 | 100 | |
| 11 | 0 | 16 | 29 | 45 | 9 | 1 | 0 | 0 | 100 | |
| 12 | 0 | 6 | 35 | 39 | 21 | 2 | 0 | 0 | 100 | |
| 13-14 | 0 | 2 | 27 | 35 | 34 | 1 | 0 | 0 | 100 | |
| 15-16 | 0 | 7 | 19 | 47 | 25 | 2 | 0 | 0 | 100 | |
| 17-18 | 1 | 5 | 18 | 39 | 24 | 13 | 0 | 0 | 100 | |
| 19-20 | 0 | 2 | 16 | 30 | 33 | 14 | 5 | 0 | 100 | |
| Total | 12 | 95 | 324 | 581 | 403 | 99 | 22 | 1 | 1.527 | |

CUADRO V

ANALISIS BIOMETRICO DE LA ANCHURA HALLADA EN
LOS OOQUISTES DE *EIMERIA FALCIFORMIS*

| Día | Media | Desviación típica | Coeficiente de variabilidad | Error típico |
|-------|-------|-------------------|-----------------------------|--------------|
| 1 | 15,58 | micras | 1,31 | 8,24 |
| 2 | 17,28 | " | 1,57 | 8,74 |
| 3 | 17,94 | " | 1,48 | 8,47 |
| 4 | 18,13 | " | 1,32 | 7,30 |
| 5 | 19,01 | " | 1,20 | 6,34 |
| 6 | 19,36 | " | 1,75 | 9,07 |
| 7 | 18,00 | " | 1,64 | 9,14 |
| 8 | 18,00 | " | 1,38 | 7,66 |
| 9 | 18,04 | " | 1,49 | 8,28 |
| 10 | 17,08 | " | 1,58 | 8,90 |
| 11 | 17,25 | " | 1,35 | 7,83 |
| 12 | 17,76 | " | 1,28 | 7,23 |
| 13-14 | 18,04 | " | 1,31 | 7,28 |
| 15-16 | 17,94 | " | 1,34 | 7,46 |
| 17-18 | 18,28 | " | 1,63 | 9,96 |
| 19-20 | 18,82 | " | 1,70 | 9,04 |

Cálculos sobre el total de ooquistas

18,09 1,61 8,94 0,04

CUADRO VI

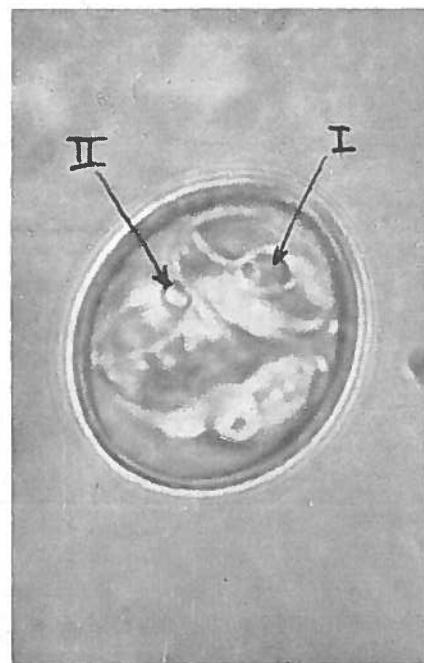
OOQUISTES POR GRAMO DE HECES TRAS LA INFECCION CON 100.000 OOQUISTES ESPOROLADOS DE *EIMERIA FALCIFORMIS*

| Día del período de patencia | Grupo I Reinfectedos | Grupo II Controles |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 1 (1) | — | — |
| 2 | 600 | 4.700 |
| 3 | 600 | 1.155.200 |
| 4 | 3.200 | 8.011.200 |
| 5 | 400 | 4.345.600 |
| 6 | 1.600 | 1.155.200 |
| 7 | 0 (2) | 467.200 |
| 8 | 200 | 448.800 |
| 9 | 800 | 14.800 |
| 10 | 0 (2) | 11.800 |
| 11 | 0 (2) | 3.200 |
| 12 | 0 (2) | 600 |
| 13 | 0 (2) | 47.600 |
| 14 | 0 (2) | 436.000 |
| 15 | 0 (2) | 856.000 |
| 16 | 0 (2) | 410.000 |
| 17 | 0 (2) | 161.800 |
| 18 | 0 (3) | 26.600 |
| 19 | 0 (3) | 7.000 |
| 20 | 200 | 12.000 |

(1) Se observaron unos pocos ooquistas en este dia. No se hizo determinación cuantitativa.

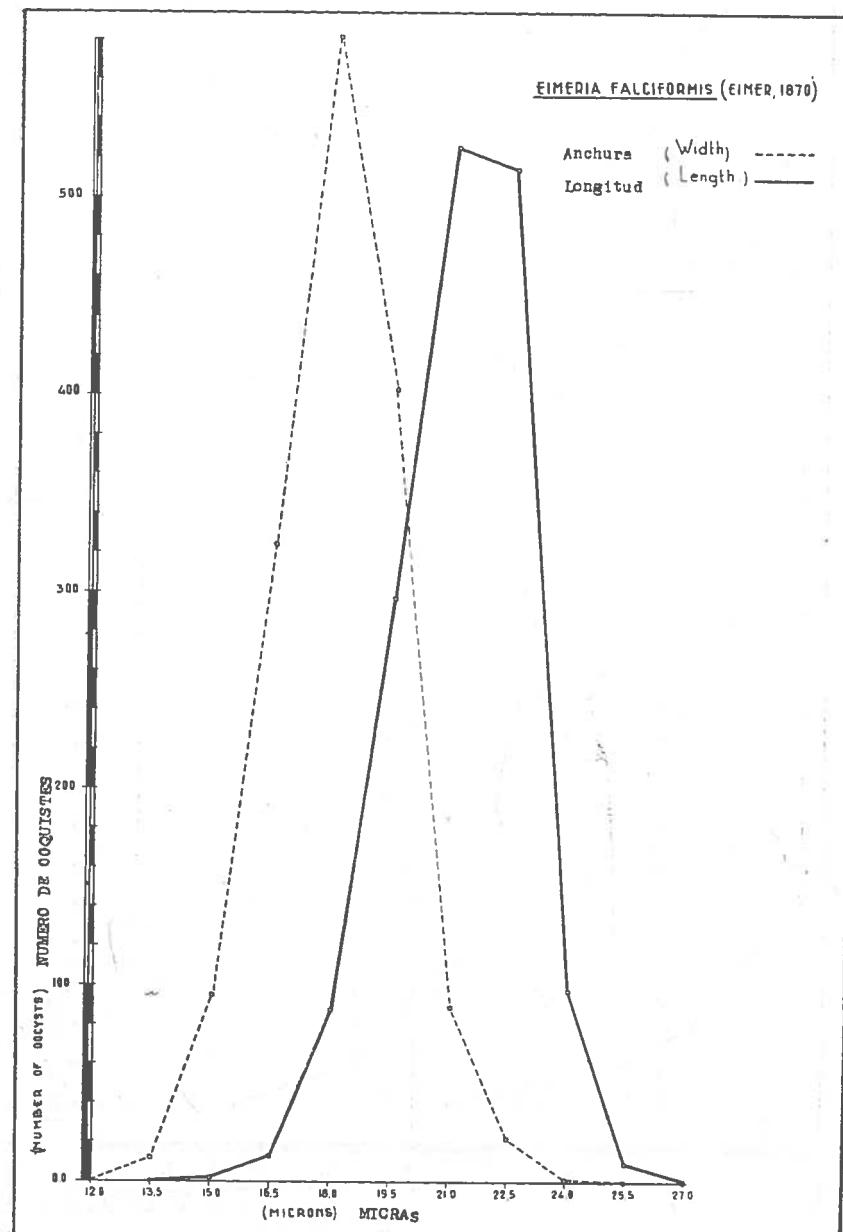
(2) Ooquistas presentes, pero el método de McMaster dió resultados negativos.

(3) No se hallaron ooquistas, aunque se emplearon métodos de concentración.

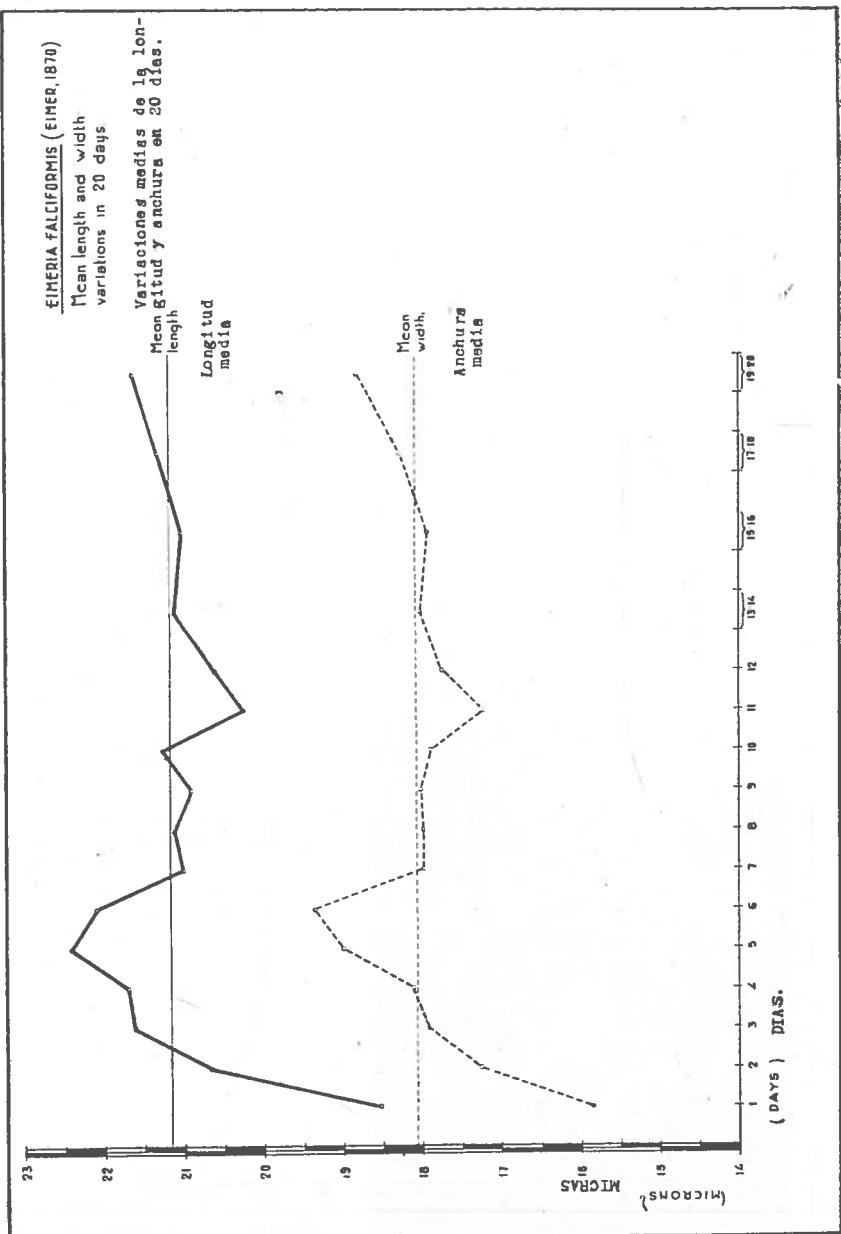


Eimeria falciformis (Eimer 1870)

I Cuerpo residual esporocístico.
II Corpúsculo refringente.



BIBLIOGRAFIA



- 1) WENYON, C. M. 1926.—*Protozoology*. Bailliere, Tindall & Cox London, England..
- 2) BECKER, E. R. 1934.—*Coccidia and coccidiosis of domesticated, game and laboratory animals and of man*. Collegiate Press, Ames, Iowa, U. S. A.
- 3) GALLI-VALERIO, B. 1932.—*Notes de Parasitologie et technique parasitologique*. Zbl. f. Bakt. 130, 129-140.
- 4) YAKIMOFF, W. L. y GOUSSEFF, W. F. 1938.—*The coccidia of mice (Mus musculus)*. Parasitology, 30, 1-3.
- 5) HARDCASTLE, A. B. 1943.—*A check list and host index of the species of the protozoan genus Eimeria*. Proc. Helminthological Soc. Washington, 10, 35-69.
- 6) BECKER, E. R. 1956.—*Catalog of Eimeriidai Genera occurring in vertebrates and not requiring intermediate hosts*. Iowa State Coll. J. of Sci., 31, 85-139.
- 7) ANÓNIMO 1958.—*A practical course in Parasitology*. Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, England.
- 8) CUENCA, C. L. 1945.—*Zootecnia*. Biblioteca de Biología Aplicada, Madrid, España.
- 9) BECKER, E. R., JENSSON, R. J., PATILLO, W. H. y VAN DOORNINCK, W. M. 1956.—*A biometrical study of the oöcyst of Eimeria necatrix, a parasite of the common fowl*. J. of Protozoology 3, 126-131.
- 10) FISH, F. 1931.—*Qualitative and statistical analyses of infections with Eimeria tenella in the chicken*. Am. J. Hyg., 14, 560-576.
- 11) BECKER, E. R., ZIMMERMANN, W. J. y PATILLO, W. H. 1955.—*A biometrical study of the oöcyst of Eimeria brunetti, a parasite of the common fowl*. J. of Protozoology, 2, 145-150.
- 12) JONES, E. E. 1932.—*Size as a species characteristic in coccidia. Variation under diverse conditions of infection*. Arch. Protistenk., 76, 130-170.
- 13) CHEISSIN, L. 1947.—*The intestinal coccidia of the tame rabbit*. Sci. Mem. Hertzen Stat. Pedagog. Inst., 51, 1-255 (En ruso).
- 14) CHEISSIN, L. 1947.—*Variability of the oöcysts of Eimeria magna Pérard*. Zool. J. (Moscú), 26, 17-30 (En ruso con resumen inglés).
- 15) TYZZER, E. E. 1932.—*Criteria and methods in the investigation of avian coccidiosis*. Science, 75, 324-328.
- 16) JOYNER, L. P. 1959.—*Comunicación personal*.
- 17) NIESCHULZ, O. y BOS, A. 1931.—*Ueber die Infektionsverlauf der Mauskokzidiose*. Zeitschr. Infektiokr. u. Hyg. Haustiere 39, 160-168.
- 18) LAPAGE, G. 1956.—*Veterinary Parasitology*. Oliver and Boyd, Edinburgh. Escocia.