

18087

Universidad de Granada

Facultad de Ciencias



DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

"CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA INFECTA-
BILIDAD DE TRICHINELLA SPIRALIS , OWEN 1835"

TESIS DOCTORAL

M^a del Carmen Mascaró Lazcano

A mi padre

Deseo hacer constar mi sincero agradecimiento al Profesor D. Diego Guevara Pozo, que me ha dirigido, ayudado y comprendido a lo largo de estos años de trabajo.

Sería demasiado largo hacer una relación de todas aquellas personas que me han prestado su ayuda y apoyo de una forma u otra, por lo que quiero que todo el personal del Instituto "Lopez-Neyra" se considere objeto de mi mayor y profundo agradecimiento.

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

CONS. SUP. INVEST. CIENT.
INSTITUTO LOPEZ-NEYRA
SECCION DE HELMINTOLOGIA

613517818
215437490

"CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA
INFECTABILIDAD DE TRICHINELLA SPIRALIS,
(OWEN 1835). "

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
PRESENTA LA LICENCIADA D^a M^a del Carmen Mascaró Lazcano.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

"CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA INFECTABILIDAD
DE TRICHINELLA SPIRALIS, (OWEN 1835). "

Tesis presentada para optar al Grado de Doctor en Ciencias por
la Licenciada D^a M^a del Carmen Mascaró Lazcano.

DIRECTOR:

PROF. DR. D. DIEGO GUEVARA POZO

Los trabajos de investigación que se exponen en la presente memoria titulada "CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA INFECTABILIDAD DE TRICHINELLA SPIRALIS ,(OWEN 1835)" que para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias presenta la Licenciada D^a M^adel Carmen Mascaró Lazcano, han sido realizados bajo la dirección del Profesor :

DR. D. DIEGO GUEVARA POZO

Licenciada D^a M^adel Carmen Mascaró Lazcano
Aspirante al Grado de Doctor

Febrero de 1976

CONTENIDO

	Pag.
1)-INTRODUCCION	1
2)-ANTECEDENTES	5
2-1) -Influencia de las cepas de <u>Trichinella spiralis</u> .	
2-2) -Influencia de la dieta vitamínica del hospedador.	
2-3) -Influencia de las hormonas gonadales del hospedador.	
3)-MATERIAL Y METODOS	26
3-1) -El parásito	
3-2) -El hospedador	
3-3) -Técnica de Infección. -Dosis	
3-4) -Recuento del número de adultos intestinales	
3-5) -Recuento del número de larvas musculares.	
3-6) -Carencias vitamínicas	
3-6-1) -Diets vitamínicas deficientes.	
3-6-2) -Criterios de deficiencia en vitaminas	
3-7) -Influencias hormonales	
3-7-1) -Gonadotomía.	
3-7-2) -Administración de hormonas.	
3-7-3) -Criterios de influencia hormonal.	
3-8) -Métodos estadísticos	
3-8-1) -Análisis de Varianza	
3-8-2) -Intervalo de confianza de la diferencia entre las medias.	

3-8-3) - Coeficiente de Variación.

4) - RESULTADOS	75
5) - DISCUSION	121
5-1) - Diferencia entre dos cepas de <u>T. spiralis</u>	
5-1) - Influencia de la dieta vitamínica del hospedador	
5-2-1) - Deficiencia en vitamina E.	
5-2-2) - Deficiencia en ácido pantoténico.	
5-3) - Influencia de las hormonas gonadales del hospedador.	
6) - CONCLUSIONES	136
7) - BIBLIOGRAFIA	139

1)-INTRODUCCION

Las primeras observaciones, de las que se tiene noticia de quistes de Trichinella spiralis en los músculos humanos, se realizaron en el año 1835. Se cree que fué James Paget, el que primero observó los quistes del parásito al microscopio. A partir de estas fechas, los trabajos e investigaciones sobre T. spiralis, se sucedieron con rapidez, desvelandose poco a poco su peculiar ciclo de vida y su amplia difusión geográfica. Pronto, T. spiralis, pasó a ser uno de los parásitos mas conocido en todo el mundo y mas empleado en trabajos de investigación.

La sencillez con que su ciclo biologico puede completarse en los animales de laboratorio, su adecuado tamaño, fácil manipulación, dificultad de peligro de infección para el investigador, y el hecho de que la intensidad de una infestación experimental pueda determinarse cuantitativamente, hizo de él un modelo experimental de gran utilidad para diferentes tipos de investigaciones.

Los trabajos sobre Trichinella, se han dirigido por todos los caminos posibles ; morfología, ciclo de vida, epidemiología, sintomatología, patología, quimioterapia, bioquímica, cultivo in vitro etc. De modo que para el investigador que con ella trabaja, resulta muy difícil, sino imposible , conocer todos los progresos que se realizan en cada uno de estos campos, y estar al día en lo que a la amplia bibliografía sobre T. spiralis se refiere.

A pesar de todos los datos que sobre este helminto se han obtenido tras tantos años de trabajo, su contribución al incremento de los conocimientos científicos aún no ha terminado. Existen todavía aspectos desconocidos de la interrelación hospedador-parásito, cuyo estudio puede resultar de importancia para el conocimiento íntimo de la bioquímica y fisiología

de T. spiralis.

La investigación sobre triquinosis experimental, ha sido en algunos casos de gran interés, bastan como ejemplo las experiencias que sobre el empleo de los corticoides para el tratamiento de la triquinosis humana se han realizado. Investigaciones estas, que sin la ayuda de los trabajos con animales de experimentación en el laboratorio, habrían conducido a un notable error, pues, fué de este modo, como se llegó a descubrir que la aparente mejoría en el estado de salud del paciente tratado con ACTH o glucocorticoides; (debida a efectos directos de estos sobre la respuesta inflamatoria, eosinofilia, fiebre etc) era terriblemente perjudicial para el curso de la enfermedad, pues al tiempo que aumentaba la fase de permanencia de los adultos de T. spiralis en el intestino, retrasaba el proceso de formación del quiste, lo que favorecía de una manera patente la intensidad y gravedad del parasitismo.

Nosotros, hemos elegido tres líneas, en cierto modo diferentes para nuestra investigación. En primer lugar, hemos comparado la infestividad de dos cepas diferentes del parásito, al objeto de elegir aquella que mejores posibilidades ofreciera para nuestro trabajo. Hemos realizado igualmente unas experiencias en las que se estudia el efecto de una deficiencia vitamínica del hospedador sobre el curso y desarrollo del parasitismo. Y, por último, avanzando mas en el campo de la interrelación hospedador-parásito, hemos estudiado la posible influencia de las hormonas gonadales del hospedador sobre la susceptibilidad a la infestación con T. spiralis.

Estos tres aspectos, nos han parecido de interés, dentro del amplio capítulo de la parasitología experimental que constituye el estudio de la triquinosis.

Los estudios de varias cepas del parásito, fueron iniciados por la

I. C. T. (International Comission of Trichinosis), y constituyen una interesante línea. Estos problemas han sido investigados en varios países, pues el descubrimiento de diferencias en la patogenicidad de las cepas puede explicar algunas peculiaridades epidemiológicas.

Las relaciones entre la dieta vitaminica del hospedador y las infestaciones con helmintos, fueron investigadas intensamente durante los años 1930-40. Despues de ello, hubo un largo parentesis y nuevamente el interés renace en los últimos años. La investigación, no va siempre acompañada de la obtención de resultados definitivos, pues la naturaleza del efecto producido por la deficiencia vitaminica del hospedador sobre el parásito, no puede determinarse nunca con exactitud, aunque es un interesante aspecto de las interrelaciones hospedador-parásito, que será completamente dilucidado cuando las técnicas de cultivo in vitro permitan determinar con precisión las indudables necesidades vitaminicas de los helmintos parásitos.

Sobre la influencia de las hormonas gonadales del hospedador en las infestaciones experimentales con helmintos, se realizan actualmente numerosos trabajos; Hosier y Durning, 1975, encuentran interesantes resultados en el ratón infestado con Nematospiroides dubius, e indican la necesidad de realizar nuevas experiencias en este sentido, así como en otros sistemas parásito-hospedador. Pawloski y col. 1974, tambien sugieren la necesidad de posteriores estudios detallados acerca de la influencia de la madurez sexual y/o castración hormonal en el grado de parasitación, tras sus experiencias con Echinococcus granulosus y perros. Szidat, 1959, uno de los primeros investigadores que trabajaron en esta línea, estudiando las dependencias de ciertos trematodes de aves del ciclo sexual de estas, señala como ciertos parásitos en su ciclo vital, se han vuelto completamente dependientes de las hormonas

sexuales de su hospedador, indicando gran número de ejemplos de influencia de las hormonas sexuales del hospedador en el ciclo de vida y desarrollo de los parásitos.

Hemos procurado unificar todos aquellos factores que puedan conducir a la obtención de resultados no comparables entre sí; Shanta y Meerovich, (1967), en uno de sus trabajos sobre Trichinella, establecen las causas responsables de la variabilidad de resultados obtenidos por los diversos investigadores que trabajan en triquinosis. Ellos los enumeran así:

- 1-diferentes cepas de T. spiralis usadas
- 2-diferentes especies de animales experimentales
- 3-diferencias individuales entre los animales
- 4-diferentes técnicas empleadas
- 5-diferentes condiciones ambientales

En nuestro trabajo, hemos tratado de fijar estas variables, para que los resultados posean la máxima uniformidad posible, y puedan ser en todo momento comparables y reproducibles en caso necesario.

A partir de una primera experiencia comparativa entre dos cepas de T. spiralis, todas nuestras experiencias han sido realizadas con la misma cepa del parásito: LASO-59-LH; con el mismo animal de experimentación, el ratón albino, (cepa del Instituto Lopez-Neyra); con un número elevado de animales, para disminuir la influencia en el cálculo de la variabilidad biológica individual; con iguales técnicas experimentales y en condiciones ambientales previamente establecidas, (habitat, temperatura, alimentación, etc.).

De este modo, podemos confiar en la fiabilidad de nuestros resultados, si bien con la prudencia necesaria para evitar conclusiones demasiado generalizadas que pudieran conducirnos a error.

2)-ANTECEDENTES

2-1)-INFLUENCIA DE LAS CEPAS DE TRICHINELLA SPIRALIS

La capacidad infestante de una determinada cepa o estirpe de T. spiralis, difiere, dependiendo de su origen, para un hospedador dado. Este hecho, debido sin duda a un acondicionamiento del parásito a uno o varios hospedadores, no es constante, sino que varía tras pases sucesivos por un mismo huésped.

Kozar y Kozar, (1965), opinan que esto indica algún tipo de dificultad para adquirir la total capacidad infectante, después de la transmisión a un nuevo hospedador, así como una adaptación gradual del parásito a diferentes especies de hospedadores.

Se ha comparado la infestividad de cepas de T. spiralis procedentes de diversos lugares del mundo, (Kenia, Alaska, Polonia, India, Norteamérica, Inglaterra, etc), pero las diferencias existentes entre algunas de ellas, (Forrester y col. 1961, Nelson y Mukundi 1963, Larsh 1963, Kozar y Kozar 1964, Nelson y Blackie 1965, Kozar y Kozar 1965, Pereverzeva 1966, Nelson y col. 1966, Shad y Crowdhury 1967, Shad y col. 1967, Read y col. 1969, Kruger y col. 1969, Pereverzeva 1971, Gretillat 1971), son tales que permiten sustentar la hipótesis de una división en variedades, (Britov 1971), e incluso en especies, (Britov 1973, Britov y Boev 1973, Britov 1974, Britov 1975, Garkavi 1972, 1973, 1974, Pereverzeva y col. 1974, Bessonov y col. 1974, Boev y col. 1975).

Por ello, y para limitar la extensión de este apartado, nos referiremos aquí únicamente a las diferencias observadas entre cepas originarias de varios focos de áreas geográficas limitadas y las cepas

recientemente aisladas de hospedadores naturales, por ser este problema el que nos afecta.

Rappaport(1942, 1943a, 1943b), no encuentra ninguna diferencia apreciable, ni biológica ni morfológica, entre tres cepas del parásito, dos de origen humano y una de cerdo.

Zimoroi(1963), halla grandes diferencias entre la capacidad infestante; para el ratón de laboratorio, de cuatro cepas de triquinella, que procedían de diferentes especies de carnívoros salvajes. Indica este autor, que en la segunda infestación experimental al ratón, se observa ya un notable aumento de la virulencia de cada una de las cepas.

En 1966, Britov y Smirnova, comparan las infestividades entre triquinas procedentes de un zorro y otras mantenidas en ratón de laboratorio por pases sucesivos durante 12 años, no encontrando diferencias entre ambas.

Perevertseva(1966), infesta ratones blancos con una cepa procedente de un zorro, y otra de un cerdo, ambos espontáneamente parasitados. La cepa de cerdo causó una fuerte invasión en los ratones, mientras que la de zorro tan solo produjo una infección leve. Además de ello, el número de larvas musculares que eran readsorvidas y lisadas, recién establecida la fase muscular del parasitismo, era muy elevado en el caso de los animales infestados con la cepa procedente del zorro.

Shad y col. (1967), comparando la infestividad de dos cepas de origen muy diferente, hallan que tras sucesivos pases en ratas albinas, las diferencias entre ambas cepas se eliminan a la novena generación de una de ellas y quinta de la otra.

Gretillat(1971), señala como la capacidad infestan-

te de la cepa de triquina del Oeste de Africa para la rata de laboratorio, aumenta tras sucesivos pases en esta.

En general, cuando se hacen comparaciones entre varias cepas de T. spiralis, aquella que se mantiene en el laboratorio por generaciones sucesivas en un mismo animal, suele ser mas infestiva para este, que aquellas recientemente aisladas de hospedadores naturales.

Kozar y Kozar, (1964), comparan la patogenicidad de varias cepas de triquina, una de ellas de laboratorio y otra de origen humano, hallando diferencias en el numero de larvas musculares que se producen en animales de experimentacion, en el sentido de una mayor infestividad de la cepa de laboratorio. Tambien señalan, un progresivo aumento, tras sucesivos pases en la misma especie de hospedador del grado de infestacion alcanzado con la cepa de origen humano.

Pawlowski y Rauhut, (1971), estudian la infestividad en ratas de tres cepas aisladas de la misma region, una de ellas mantenida en animales de laboratorio durante 6 años, otra de un paciente humano y otra de jabalí. El número de adultos intestinales fué similar en todas ellas. El número de larvas musculares obtenido en los animales de experimentación, con igual dosis infestante, fué, sin embargo, doble para la cepa de laboratorio en relación con las demás.

Pereverzeva, (1971), compara, con una cepa de laboratorio como control, la infestividad de otras tres aisladas de perro, zorro y oso. El paso de estas cepas de animales carnívoros a los roedores de laboratorio, supuso una aclimatación lenta; habia una eliminación rápida de los adultos intestinales, y las larvas de triquina aparecian mas tarde en los músculos en relación con el control. La intensidad de la in-

fección, fué muy inferior a la obtenida con el control. Tras sucesivos pases, el número de larvas musculares aumentó, aunque siguió siendo menor al obtenido con la cepa de laboratorio.

2-2)-INFLUENCIA DE LA DIETA VITAMINICA DEL HOSPEDADOR

Se han realizado numerosas experiencias sobre la intensidad y curso de la infección parasitaria, en animales de experimentación alimentados con dietas deficientes o carenciales, bien en proteínas, glúcidos, lípidos, vitaminas o elementos minerales. Se sabe, gracias a ello, que el grado de parasitación puede depender en parte del estado de nutrición del hospedador, pues en relación con este, la infección puede alcanzar una mayor o menor intensidad.

En el caso que nos ocupa, es decir cuando la carencia o deficiencia se refieren a una o varias vitaminas, la bibliografía, no es muy amplia. Se ha trabajado sobre todo con Hymenolepis, (H.nana y H.diminuta), Ascaridia galli, Nippostrongylus muris, Trichinella spiralis, y algunas experiencias aisladas con otros helmintos.

En 1941, Hager observa durante un periodo de varios meses, que una dieta deficiente en tiamina, no tiene efecto en la producción de huevos de ejemplares de Hymenolepis diminuta, que parasitan a ratas. Sin embargo, con una dieta deficiente en todas las vitaminas del complejo B, suplementada con tiamina, decrece gradualmente la producción de huevos del parásito.

Chandler, (1943) y Addis y Chandler, (1944), determinan que las dietas deficientes en tiamina o en vitaminas A, D, y E, no disminuyen el número de adultos de H. diminuta que se establecen, pero detiene su crecimiento, cuando el hospedador es una rata hembra.

Addis y Chandler, (1946), estudian el efecto producido en el mismo parásito por la ausencia en la alimentación

del hospedador de :niacina, piridoxina, ácido pantoténico, riboflavina, biotina, p-aminobenzoico, inositol, colina y ácido fólico, sea colectiva o individualmente, concluyendo que tanto en un caso como en otros, los cestodes se desarrollan normalmente. Estos autores, opinan que los resultados obtenidos en trabajos anteriores, se deben a la necesidad de un factor o factores presentes en la levadura, (fuente de vitaminas del grupo B utilizada por ellos en la dieta no deficiente), necesarios para el normal crecimiento y establecimiento de H. diminuta .

Según Beck y Chandler(1950), y Chandler y col. (1950), la eliminación completa de tiamina en la dieta del hospedador, no posee ningún efecto. H. diminuta, como demuestran con tiamina marcada, puede obtener esta de la mucosa intestinal del hospedador.

Beck(1950, 1952a),indica igualmente la existencia de un factor en el extracto de levadura, necesario para el crecimiento de este cestode. Platzer y Roberts(1969), establecen la necesidad de prevenir la coprofagia en los animales utilizados para este tipo de experiencias. En estas condiciones, demuestran que H. diminuta requiere vitamina B6 para establecerse en el intestino de la rata y para su diferenciación y reproducción una vez establecida. Los ejemplares recogidos de ratas deficientes en vitamina B6, muestran, (Platzer y Roberts, 1970a), reducida actividad en aquellos enzimas que requieren piridoxal-fosfato como cofactor.

H. diminuta no requiere riboflavina, y ocurre el hecho curioso de que los gusanos que se desarrollan en ratas con dieta deficiente en ella, alcanzan mayor tamaño que aquellas que viven en animales control, (Platzer y Roberts 1970b).

En 1973, Roberts y Mong demuestran mediante el cul-

tivo "in vitro", que el efecto producido por la carencia de vitamina B6 en la dieta del hospedador sobre H. diminuta, se debe a un efecto directo sobre el parásito. La adición al medio de cultivo del antimetabolito deoxipiridoxina, inhibe por completo el crecimiento y la reproducción del cestode, revertiendo ambos a la normalidad por adición de piridoxina.

Según Krakower y col. (1940), en ratas con deficiencia en vitamina A, un mayor número de ejemplares de Schistosoma mansoni, son capaces de alcanzar la madurez sexual que en animales no deficientes. La deficiencia en vitamina C, no altera el curso de la infección en cobayas, pero no permite un desarrollo normal de la cubierta del huevo del Schistosoma, (Krakower y col. 1944).

En el caso del nematode Ascaridia galli, una serie de experiencias, (Ackert y col. 1927, Ackert y Spindler 1929, Ackert y col. 1931, Ackert y Nolf 1931, Ackert 1931, Ackert y Witlock 1935, Ackert 1939, Ackert y col. 1940), sobre la influencia de las dietas vitamínicas, indican que un mayor número de nematodes se establecen en pollos alimentados con dietas deficientes con respecto a animales que reciben una dieta normal. En pollos deficientes en vitamina A, los Ascaridia, alcanzan además mayor tamaño.

Sadun y col. (1949), observan, que en ausencia de un factor de la dieta del hospedador, que puede ser cobalamina o ácido fólico, los Ascaridia galli, no pueden alcanzar un desarrollo normal. Hansen y col. (1954), determinan que una dieta enriquecida en Vit. B12, reduce el número de ejemplares de A. galli en el intestino, pero aumenta su crecimiento. Maldonado y Aseñjo (1953), determinan que, ni el ácido fólico, ni la vitamina B12 afectan la parasitación en ratas por Nippo-

strongylus muris, de modo que los resultados no varían utilizando dietas deficientes o enriquecidas en estos compuestos, para la alimentación de los animales experimentalmente infectados.

Las deficiencias vitamínicas, disminuyen en algunos casos la resistencia de los mamíferos a la infección con nematodos intestinales de un modo muy marcado. Así, en ratas alimentadas con una dieta deficiente en vitamina A, se desarrollan muchos más adultos de Nippostrongylus muris, que en animales no deficientes, (Spindler, 1933). Similar ocurre en deficiencia en vitaminas B1 y B2, (Watt, 1944). Una dieta deficiente en vitamina A, disminuye la resistencia natural del cerdo a ser infectado con Ascaris lumbricoides de origen humano, (Hiraishi, 1927), y de ratas a la infestación con Parascaris equorum.

Cerdos alimentados con una dieta baja en vitaminas, albergan un número más elevado de Strongyloides ramsoni, que aquellas que ingieren una dieta equilibrada. El número de Ascaris suum sin embargo, no se altera por exposición del hospedador a niveles bajos de vitaminas, (Hale y col., 1970).

En los últimos años, Kershaw y col. (1973) y Storey y col. (1974), han estudiado la influencia de diversas deficiencias en la alimentación de "ratas de algodón", sobre el parasitismo experimental por Litosomoides carinii; con dieta deficiente en vitamina A, o en vitamina E, se desarrollan mayor número de parásitos en el hospedador. En el caso de deficiencia en vitamina E, las filarias alcanzan además mayor tamaño que aquellas que parasitan a animales control. El desarrollo embriogénico se retardaba en los gusanos hembras recogidos de animales con dieta deficiente a la vez en proteínas y vitamina A.

Kershaw y Storey (1974), establecen también, que los Litosomoides carinii que se desarrollan en hospedadores no habituales, son más susceptibles a los cambios en el régimen alimenticio del hospedador, pues, la deficiencia en vitamina E, produce efectos más patentes en ratas blancas y ratas "encapuchadas" que en ratas "de algodón".

La primera experiencia, en esta línea de trabajo con Trichinella spiralis, es la de Mac Coy (1934), quien indica, que alimentando ratas con una dieta deficiente en vitamina A, se obtiene un mayor número de larvas de triquina musculares. Al mismo tiempo, la inmunidad a una superinfección, se reduce en las ratas deficientes.

Motomura y Umezumi (1936), indican igualmente, que las ratas con deficiencia en vitamina A, son mucho más susceptibles a la infección triquinosa que las alimentadas normalmente. La calcificación de los quistes, parece ser además, más retardada en los animales deficientes en vitamina A.

Zaiman (1940), encuentra que se desarrollan menos larvas musculares de T. spiralis en ratas deficientes en vitamina E, en relación con animales testigos.

Según Larsh y Gilchrist (1950), la administración prolongada a ratones viejos de una dieta deficiente en vitamina A, no altera la inmunidad del hospedador a la infestación con T. spiralis, a diferencia de lo que ocurre en ratas. Larsh (1963), opina que este es uno de los muchos ejemplos de una diferente respuesta a un tratamiento dado, dependiendo del hospedador, e indica la necesidad de procurar evitar conclusiones amplias respecto al efecto de un tratamiento específico.

De acuerdo con Gierasmov y Czerpak (1969), dosis intramusculares de vitamina A administradas a ratones durante el cur-

so de la infección triquinosa, tienen un efecto significativo en el sentido de disminuir el número de larvas que llegan a invadir los músculos.

Estos ejemplos, constituyen una muestra representativa de lo que se ha trabajado en esta línea de investigación. Puede en ella observarse una gran diversidad, tanto de helmintos parásitos como de hospedadores con los que se ha experimentado, así como de los diferentes criterios escogidos a la hora del análisis de resultados, por lo que es muy difícil, sacar conclusiones definitivas ni comparar los resultados de los distintos autores. Una conclusión válida es la necesidad de aunar criterios y trabajar utilizando iguales métodos, para que puedan hacerse análisis comparativos de resultados, entre unas experiencias y otras.

Nuestro propósito, ha sido con este trabajo, aportar algunos datos experimentales, y ciertos resultados personales, al conjunto de observaciones realizadas por otros investigadores.

2-3)-INFLUENCIA DE LAS HORMONAS GONADALES DEL HOSPEDADOR

Existen en la bibliografía numerosos ejemplos que indican la existencia de una diferente susceptibilidad a diversos parásitos entre hospedadores machos y hembras, y de la modificación que de ella puede producirse por gonadectomía o administración de diferentes hormonas sexuales.

Al objeto de reducir los antecedentes al respecto nos limitaremos a reseñar aquellas experiencias realizadas con helmintos, por afectar más de cerca a nuestra línea de investigación con Trichostrongylus axei.

En 1944, Addis y Chandler hallan mayor número de ejemplares adultos de Hymenolepis diminuta, en ratones machos que en hembras, infestados experimentalmente con igual número de cisticercos.

Addis(1946), determina que el tratamiento de ratones de ambos sexos con hormonas sexuales masculinas aumenta el crecimiento de H. diminuta, asimismo, el número de huevos del parásito que aparecen en heces, era menor en ratas machos castradas que en animales control, pero volvía al normal por administración de testosterona.

Beck y Chandler (1950) y Beck(1952b), denuncian una mayor producción de huevos de H. diminuta, en el ratón macho que en la hembra, infestando solo con un ejemplar del parásito. En iguales condiciones, la castración, en ratones machos, disminuye el número de huevos en heces.

Hunninen(1935), observa que los ratones hembras son más resistentes a la infestación experimental con H. nana algunos días tras el parto.

Bailenger y col, (1964) encuentran que el número de H. nana aumenta en ratones de ambos sexos tratados con hormonas sexuales masculinas, mientras que el tratamiento con estrógenos produce el efecto opuesto.

La ovariectomía, no afecta la infección con H. nana en ratonas de 4-12 semanas, (Bailenger y col. 1972b), sin embargo la castración de los ratones machos a las 5-9 o 12 semanas de edad, disminuye significativamente el número de ejemplares adultos del intestino, (Bailenger y Larcher-Fourrier, 1972). Dosis para fisiológicas de testosterona, restituyen la receptividad de los animales machos castrados a H. nana, pero carecen de efecto sobre la infección de impúberes normales, (Bailenger y Larcher-Fourrier, 1973).

Ohbayashi y Sakamoto, (1966), determinan que los ratones hembras son más resistentes a la infección experimental con Echinococcus multilocularis que los machos. Posteriormente, Frayha y col (1971), encuentran idéntico resultado en sus experiencias con E. granulosus; los ratones machos, no solo albergan mayor número de quistes, sino que además estos son de mayor tamaño. La administración de testosterona, aumenta el número y la talla de los quistes en animales de ambos sexos, mientras que el estradiol produce el efecto opuesto.

Szidat, (1968, 1971), con motivo de unas investigaciones acerca del Echinococcus patagonicus, (Szidat 1960), procedente del zorro rojo de la Patagonia, observó que los zorros capturados en invierno, albergaban en su intestino solamente equinococos infecundos, y únicamente en aquellos animales capturados en época de celo podían encontrarse tenias con huevos fértiles en el útero. Esta interesante observación, le llevó a realizar una experiencia con E. granulosus, comparando los resultados obtenidos tras infección experimental en

perros intactos y gonadectomizados de ambos sexos :Mientras que en el grupo control aparecía una fuerte infectación, los animales castrados estaban libres de tenias intestinales, o si poseían algunas, estas, en contraposición con las halladas en perros normales, eran infértiles.

Rawlowski y col. (1974), realizan también una experiencia para tratar de averiguar si las hormonas sexuales pueden modificar de algún modo la intensidad de la infección con gusanos adultos de E. granulosus. Sus resultados les llevan a concluir, que si bien los perros machos alojan un número mucho más elevado de parásitos que las hembras, tanto la administración de stilbestrol como de testosterona, disminuyen el número de ejemplares adultos de E. granulosus encontrados en un examen postmortem en el intestino delgado de perros sexualmente inmaduros.

La incidencia de estrobilocercosis hepática en ratas experimentalmente infectadas con huevos de Taenia taeniformis, (Hydatigera taeniformis) es significativamente más baja en ratas hembras que en machos, (Curtis, Dunning y Bullock, 1933). La testosterona actúa aumentando la susceptibilidad a la infección con Cysticercus crassicolis en ratas machos, mientras que intensifica esta en hembras. La administración de estrógenos produce el efecto contrario, (Campbell, 1939). La gonadectomía, disminuye la intensidad de la infección en machos mientras que intensifica esta en hembras ; la administración de andrógenos a ratas ovariectomizadas, las hace menos resistentes a la infección, (Campbell y Melcher 1940).

Esch, (1967), determina que, tanto los ratones machos como los conejos machos, son más resistentes a la infección experi-

mental con la fase larvaria de Taenia multiceps, (Multiceps multiceps) que las hembras. Examinando la distribución de las larvas, halla que esta resistencia está ligada a una menor incidencia en el sistema nervioso central de los machos.

En el caso de Taenia pisiformis, Berg y Beck, (1968), encuentran diferencias significativas entre conejos de ambos sexos en el sentido de que los machos tienen un mayor porcentaje de cisticercos en la región peritoneal del recto, mientras que las hembras tienen un gran número de ellos libremente distribuidos en la cavidad peritoneal. Vusse, (1969), no encuentra diferencias entre la incidencia y localización de los cisticercos de T. pisiformis entre conejos machos y hembras.

En pollos machos, se desarrolla con la edad una mayor resistencia a la infección con Raillietina cesticiillus. En pollos hembras, la situación es más compleja, pues aunque la resistencia inicial a la infección es más pronunciada que en el macho, esta disminuye progresivamente con el desarrollo gonadal, (Gray 1972). Experiencias con animales gonadectomizados y/o tratados con testosterona y estradiol, llevan a concluir que los estrógenos son, al menos en parte, responsables de la reducción de la resistencia en pollos hembras a R. cesticiillus, (Gray, 1973).

Segun Nadakal y col. (1975), la administración a diversas aves de corral de propionato de testosterona, no parece afectar la resistencia a infecciones con Raillietina tetragona. El estilbestrol, parece inhibir el crecimiento y desarrollo de los gusanos, con respecto a los que se desarrollan en animales control.

En ratones machos infestados experimentalmente con huevos de Mesocestoides corti, se recogen siempre en la cavidad peritoneal mayor número de larvas tetrathyridia que en las hembras, la administración a los ratones de ambos sexos de propionato de testosterona, causa un aumento considerable en el número de larvas intraperitoneales, en relación con animales control. Este incremento, es mucho mas marcado en los animales machos. El benzoato de estradiol, acelera el crecimiento y la multiplicación de los tetrathyridia celómicos en mucha menor proporción que el propionato de testosterona, pero aumenta significativamente la infección en el hígado, (Novak, 1973, 1974, Novak y Lubinsky 1974).

Con Schistosoma mansoni, se han efectuado numerosos trabajos sobre la influencia de las hormonas sexuales. Berg, (1953, 1957), demuestra que la castración disminuye el número de schistosomas machos, que se establecen tras infestación experimental, en las venas meséntéricas del ratón macho. Examina también, la acción de la testosterona, tanto en ratones machos normales como orquidectomizados, obteniendo en este caso, una reducción considerable en el número total de schistosomas.

Bussolati y col. (1967), y Carneri y col. 1967), utilizando diversas hormonas inhibidoras de la ovulación para el tratamiento de ratones infectados con S. mansoni, encuentran que de ellas la metil-testosterona y el 17β estradiol, poseen actividad terapéutica en el sentido de reducir el número total de schistosomas adultos que llegan a instalarse en las venas.

Lagrange, (1963), trata a un grupo de ratones hembras infestadas con S. mansoni, con hormonas femeninas y con ultrasonidos

obteniendo de este modo suspensión de la puesta de huevos por el parásito y una mayor supervivencia de los ratones, con respecto a animales control.

Briggs, (1972), sugiere que la fisiología reproductora del *Schistosoma* puede estar controlada por hormonas esteroideas, pues la administración a ratones parasitados por *S. mansoni*, de esteroides sintéticos, (que inhiben el metabolismo esteroide de los mamíferos), reduce el número de miracidios en heces, y altera el metabolismo esteroide de los gusanos adultos recogidos 15 días tras el tratamiento.

Combescot y col. (1970), Combescot y N'Gore-Traore, (1970), Combescot y col. (1971, 1972, 1974), trabajando con hamsters y *Schistosoma mansoni*, determinan que las hembras son más resistentes a la infección que los machos, aumentando con la gestación esta resistencia relativa. Un implante de estradiol a hamsters hembras castradas, antes de infectarlas con furcocercarias, disminuye la intensidad del parasitismo a la mitad, en relación con animales testigos. Si la implantación se ha hecho 14 días antes, es más eficaz que 4 días antes de la infección. La administración cotidiana de dosis altas de propionato de testosterona, parece causar un efecto similar.

Según Porter, (1935), las ratas hembras son significativamente más resistentes que los machos a la infección experimental con *Nippostrongylus muris*. Haley (1954, 1958), no encuentra esta diferencia utilizando ratas como hospedador, pero sí cuando emplea el hamster. En el caso de *N. brasiliensis*, las hembras adultas de ratón albergan solo la mitad de parásitos que los machos, (Neafle y Haley, 1962). En cobayas machos, se recogen mayor número de larvas pulmonares de *N. brasiliensis* que en las hembras, aunque esta di-

ferencia en el número de gusanos que alcanzan los pulmones no se refleja en el establecimiento de los gusanos adultos en el intestino, (Parker 1961).

Waddell y col. (1971), utilizando ratas como hospedador, establecen que los gusanos adultos de N. brasiliensis son expulsados antes en animales hembras que en machos, eliminándose esta diferencia con la castración.

Solomon, (1963, 1969), y Solomon y Haley, (1968) determinan que en hamsters machos, la gonadotomía disminuye la susceptibilidad a la infección con N. brasiliensis. En hamsters hembras ovariectomizadas, el porcentaje de gusanos recogidos tras infección experimental, no difiere sin embargo de los controles.

De acuerdo con Mathies, (1954, 1959) y Stahl, (1962), el número de Aspicularis tetraptera que se recogen en ratones infectados experimentalmente, es el doble en hospedadores machos que en hembras, y aquellos muestran una infección más uniforme. Este hecho, se observa también en ratones infectados naturalmente, (Behnke, 1975). Similar ocurre con Nematospiroides dubius, (Dobson, 1961 a, b, Newton y col. 1962), donde además los adultos recogidos del macho son de menor longitud que los recogidos del ratón hembra. El tratamiento de ratas orquiectomizadas con testosterona, favorece el crecimiento del N. dubius macho más que de la hembra, mientras que la administración de estradiol a ratas hembras castradas, causa un menor crecimiento del nematode en ambos sexos, más patente en el gusano hembra, (Dobson, 1966b).

Con Amplificaecum robertsi, se obtienen menos larvas, (3º estadio), tras infestación experimental del ratón hembra que del macho. Estas larvas, son además más pequeñas que las halladas en

machos. La gonadectomía elimina las diferencias entre los sexos y disminuye el tamaño de los gusanos, (Dobson, 1965, 1966a).

Chomiz, (1967), determina que en conejos adultos los machos son mas susceptibles a la infección con Strongyloides papillosus que las hembras. Knight y col. (1972), realizan un estudio sobre nematodes gastrointestinales en corderos infectados naturalmente, y encuentran una diferencia considerable entre los números de S. papillosus que parasitan a corderos machos y hembras, en este mismo sentido. Posteriormente, Chomiz(1974) , halla un efecto positivo con la administración de propionato de testosterona, en el sentido de incrementar el nivel de producción de huevos por el parásito en conejas castradas.

Miller, (1965), señala que las perras adultas son mas resistentes a la infección primaria con Ancylostoma caninum que los machos adultos. En ratas infectadas con el mismo parásito, la inyección de testosterona, aumenta la susceptibilidad en relación con animales controles ;así como en perros castrados, la producción de huevos de A. caninum es menor que en animales normales, (Paik 1966).

Los carneros machos, son de acuerdo con Bawden, (1969), mas susceptibles a la infección con Oesophagostomum columbianum que las hembras, y los nematodes hembras que parasitan a estas son mas fecundos que aquellos que se desarrollan en animales machos.

Oshima, (1961), encuentra una gran influencia de la gestación y lactación en la migración de la larva de Toxocara canis en ratón, pues el porcentaje de larvas recogidas de los tejidos, tras infección experimental, decrece gradualmente al aproximarse el parto, para incrementarse despues de este de un modo progresivo hasta

el fin de la lactancia. Similar disminución en el número de larvas se obtiene en hembras no gestantes a las que se administra prolactina.

Ehrenford, (1957), estudiando la ascaridiasis canina, observa que las perras adultas son mas resistentes a la infección con Toxocara canis que los machos, y que el desarrollo de la resistencia natural al parásito, ligado a la edad del hospedador, comienza antes en el animal hembra.

Las hormonas gonadales, están también relacionadas con la resistencia natural de los pollos a Ascaridia galli, como lo indican una serie de experiencias: Sadun, (1948, 1952), estudia el efecto de inyecciones repetidas de benzoato de estradiol en hembras inmaduras, y de propionato de testosterona en machos inmaduros, observando en ambos casos, los pollos eliminan A. galli en mayor número que animales controles no tratados. Este aumento de resistencia en los hospedadores que reciben la hormona sexual homóloga, es similar en machos y en hembras. El benzoato de estradiol, parece causar además un retraso temporal en la tasa media de crecimiento de los gusanos, mientras que el propionato de testosterona produce una aceleración temporal.

Ackert y Dewhirst (1950), determinan que los pollos alcanzan su máxima resistencia al nematode A. galli en la madurez sexual, y que el dietilestilbestrol aumenta la resistencia de las hembras jóvenes al nematode. Según Todd y Crowder-Ky, (1952), la metil testosterona causa un aumento inicial, seguido de un posterior retraso, en el crecimiento de los Ascaridia galli que se desarrollan en pollos machos jóvenes. Todd y Hollings-Worth, (1952), encuentran diferencias muy significativas entre el número de A. galli que se desa-

rolla en pollos machos y hembras, siempre que estos sean mayores de 5-9 semanas de edad, hallando diferencias solamente significativas en pollos mas jovenes, pero siempre en el sentido de una mayor infestacion en pollos machos.

En 1960, Ritterson, en un intento de modificar la notable inmunidad natural a la fase muscular de la infestacion con Trichinella spiralis, que posee el hamster chinesco, (*Cricetus griseus*), utilizó metil-testosterona, observando que su administracion producía un aumento notable en el numero de larvas de triquina que lograban alcanzar las fibras musculares.

Manikau y Hamilton(1972), trabajando con Trichinella spiralis, y utilizando ratas como hospedador experimental, llegan a las siguientes conclusiones : Las ratas macho alojan aproximadamente 3 veces mas larvas musculares que las hembras. En las ratas gonadectomizadas, los machos inyectados con estilbestrol, tienen la mitad de larvas musculares que las hembras con testosterona . En los machos normales tratados con stilbestrol y ratas hembras normales tratadas con testosterona, los contajes del número de larvas musculares, son esencialmente iguales.

De todo lo anterior, se deduce sin lugar a dudas, que las hormonas sexuales del hospedador tienen una significativa influencia en la capacidad infestante de los parásitos.

Tambien puede deducirse, que los hospedadores machos son mas susceptibles a la parasitacion que las hembras, excepto en muy escasas experiencias. Pero en biología parasitaria, no pueden hacerse extrapolaciones ni generalizaciones, por lo que consideramos de interés realizar experiencias con Trichinella spiralis, ya

que, por una parte se trata de un parásito humano de alta patogenicidad y por otra parte la bibliografía acusa una muy escasa casuística de experiencias hechas con este parásito, en relación con la influencia de las hormonas gonadales del hospedador.

3)-MATERIAL Y METODOS

3-1)-EL PARASITO

Hemos utilizado en nuestras experiencias dos cepas de Trichinella spiralis de diferente origen.

La cepa LASO-59-LH, procede de un cerdo espontaneamente parasitado de La Solana, (Ciudad Real), y se mantiene en el Instituto Lopez-Neyra de Parasitología desde 1959, por infestaciones sucesivas en ratones albinos.

La cepa POLE-74-LH procede de un cerdo espontaneamente parasitado de Pola de Lena, (Asturias), y se mantiene en el Instituto Lopez-Neyra desde febrero de 1974, por pases sucesivos en ratones albinos.

Ambas cepas de Trichinella spiralis, han sido registradas en el "International Register of Living Helminh Species and Strains" de la Organización Mundial de la Salud.

3-2)-EL HOSPEDADOR

Como animal de experimentación, hemos utilizado ratones albinos, de una cepa mantenida desde 1950 en el Instituto Lopez-Neyra, y procedente de una pareja donada por el Instituto Ibyz de Madrid.

El emplear el ratón albino como hospedador del parásito tiene varias ventajas. Numerosos autores, han trabajado en triquinosis utilizando, por lo que el curso de la infección en él, es bien conocido y nos evita experiencias previas. Este animal, posee además la ventaja de su pequeño tamaño, lo que facilita el recuento de larvas y adultos de T. spiralis.

y permite utilizar un número elevado de individuos para cada experiencia, reduciéndose así, la influencia de las diferencias existentes entre individuos de un mismo grupo.

Los animales utilizados en cada experiencia, eran de la misma edad y peso aproximados, y habían vivido en idénticas condiciones desde el periodo de destete.

Durante el curso de las experiencias, los animales se mantenían en frascos de cristal individuales, y permanecían en una habitación termoregulada a 24°C.

Salvo en aquellos casos en que se utilizaban dietas especiales, los animales se alimentaban con un pienso comercial; Sanders R. F. cuya composición es la siguiente:

Proteína bruta	19'76
Materia grasa	3'06
Fibra bruta	4'98
Materias minerales	5'05
Fósforo	0'64
Calcio	0'55
ClNa	0'35
Metionina	0'41
Metionina Cistina	0'74
Glicina	1'08
Hidratos de Carbono	62'13
Vitaminas	+

El total de Kilo-calorías de este pienso asciende a

2.564.

Cuando se utilizaban dietas especiales, (cuya composición se indica en otro apartado), se acoplaba al frasco donde vivía el animal, un vaso de vidrio con el alimento para evitar, en lo posible, que este se mezclara con heces y orina.

3-3)-TECNICAS DE INFESTACION - DOSIS

Para la infestación de un animal de experimentación con Trichinella spiralis, existen en general dos técnicas:

- a)-Infestación con carne triquinosa directamente
- b)-Infestación con larvas de triquina liberadas del quiste por digestión artificial

La segunda de ellas, suele ser utilizada por una gran parte de los investigadores que trabajan en triquinosis experimental, sobre todo cuando emplean un número elevado de animales en sus experiencias, o cuando infestan con una dosis alta de larvas de T. spiralis.

Nosotros hemos ensayado el empleo de la técnica de dosificación del inóculo por digestión artificial, encontrando en ello algunos inconvenientes, por lo que decidimos no emplear dicho método.

Así Kozar y Kozar(1963), indican que las larvas de triquina liberadas del quiste por digestión artificial, pierden viabilidad. Por otra parte, al tener que administrarlas al animal por medio de una sonda buco-gástrica, (suspendidas en: solución salina, agar, gelatina etc.), al tiempo que, indudablemente, se pierden en el proceso un número mas ó menos elevado de larvas, vamos en contra del proceso de infestación natural.

ral, al tener que someter las larvas a una doble digestión.

Guevara-Pozo y Piñero-Venegas, realizaron unas experiencias comparativas entre la técnica de infestación por digestión artificial, y aquellas en que se utiliza directamente carne triquinosa. Estos autores concluyen, que la dosificación del inóculo por digestión artificial conduce, a una infestación menor a la obtenida por otras técnicas, con el mismo número de larvas de triquina administradas. Además, la variabilidad individual de infestación en un mismo lote de animales, era también mas elevada, según se deduce de los cuadros numéricos que estos autores publican en su trabajo.

La técnica de dosificación por digestión artificial, no nos parece, pues, muy válida, ya que introduce errores en la dosis infestante, y consecuentemente en el grado de infestación individual. El empleo de ella, puede sin embargo justificarse cuando se trata de experiencias en las que no se pretenda obtener datos cuantitativos comparables.

Cuando, como en nuestro caso, las conclusiones de una experiencia se basan en el número de larvas musculares o de adultos intestinales obtenidos en cada animal, es de gran importancia asegurarse de que en realidad se ha infestado con un número de larvas lo mas exacto posible.

Dentro del procedimiento de infestación con carne triquinosa, existen dos técnicas, la técnica de recuento directo y la de homogeneización de la carne triquinosa. Puesto que hemos utilizado ambas, haremos de ellas una descripción.

Técnica de recuento directo

Consiste, en el contaje microscópico directo a partir de la carne triquinosa del número de larvas deseado. Hemos utilizado siempre

para ello, carne de ratones infestados dos meses atrás. Existe diferencia significativa entre el número de adultos intestinales que se desarrollan a partir de larvas jóvenes, (1 ó 2 meses en el músculo), y de larvas más viejas, según indican Hendricks(1949), y Kozar M. (1974), por lo que preferimos utilizar siempre larvas con una antigüedad igual en músculo.

El recuento del número de larvas de triquina necesario para cada animal, se realizaba a la lupa, (20 aumentos), en pequeños trozos de diafragma y peritoneo, comprimidos en las placas de triquinoscopía. Combinando estos trozos, preparabamos dosis exactas de 100 larvas que se administraban a los ratones, introduciendoselas en la boca con ayuda de unas pinzas finas.

De este modo, teníamos la seguridad de que cada animal ingería un número exacto de larvas, y de que estas no habrían sufrido menoscabo alguno en su capacidad infestante natural, por no haber sido traumatizado el quiste, y por consiguiente la larva.

En la mayoría de nuestras experiencias, hemos utilizado esta técnica de recuento directo, que si bien es un poco lenta, una vez empleada varias veces constituye un proceso de rutina, y puede realizarse con rapidez similar a las otras técnicas, sobre todo cuando se dispone para la infestación de animales altamente infestados.

Técnica de homogeneización de la carne triquinosa

Esta técnica, descrita por Guevara-Pozo y Piñero-Venegas, (1972), demostró en sus experiencias ser igualmente exacta que la de recuento directo, de manera que puede ser utilizada cuando se precisa trabajar con un número elevado de animales, o con una alta dosis infestante, casos ambos en los que el recuento directo sería demasiado lento. El procedimiento a emplear es el siguiente :

La carne triquinosa, procedente de un animal infestado tres meses atrás, se mezcla con solución salina (9%), en un homogeneizador, triturandola a 3 000 r.p.m durante dos minutos. El producto resultante, se centrifuga a 4 000 rpm, durante 5 minutos, recogiendo la carne triquinosa en el fondo del tubo de centrifuga. De esta carne, despues de bien mezclada, se toman varias muestras que se pesan a la décima de miligramo, y se examinan a la lupa para determinar el número de larvas de triquina que contiene cada una de ellas.

Hallando el coeficiente de Variación de los valores en relación con el peso de las muestras, se comprueba si la homogeneización y trituración de la carne han sido suficientes, (C. V. $< 5\%$). Tras ello, se calcula el número de miligramos de carne que es preciso administrar a cada animal, para infestarlo con la dosis deseada.

3-4)-RECUESTO DEL NUMERO DE ADULTOS INTESTINALES

Existen numerosos métodos para el aislamiento de los adultos de T. spiralis de la pared y contenido intestinal. Se basan la mayoría de ellos en establecer un gradiente térmico que obligue a los gusanos a migrar en una determinada dirección. Claro es, que este tipo de dispositivos solo son útiles cuando las triquinas adultas estan vivas y muy activas, no se recogen los gusanos muertos, ni aquellos cuya movilidad esté atenuada, lo que hace imposible su utilización en exámenes de intestinos de animales que lleven algún tiempo muertos.

Dado el tamaño relativamente grande, (unos 27mm. de longitud para las hembras y 120mm para los machos), de los adultos de T. spiralis resulta muy fácil evidenciarlos a la lupa, (20 aumentos), y

distinguirlos del contenido intestinal, sobre todo con iluminación lateral y fondo oscuro.

Por ello, hemos decidido emplear para la recolección de adultos, el procedimiento mas simple y a la vez el menos erróneo que pueda utilizarse, que se practicó de la siguiente manera:

Siempre nos limitamos al recuento de gusanos en el intestino delgado. Una vez extraído éste, lo colocabamos en una caja Petri con suero salino (9‰), en una estufa a 37°C. Allí permanecía hasta que finalizaban los movimientos intestinales, y despues de ello unos 15 minutos mas. Pasado este tiempo, se rompían los mesenterios y se abría el intestino en toda su longitud, dejándolo así en la estufa por espacio de $\frac{1}{2}$ hora. Trascorrida esta, absolutamente todos los adultos de T. spiralis, se habí-
 bñ. sprendido de las paredes intestinales, (como podía determinarse observandolas comprimidas en los portas de triquinoscopía), por lo que eliminando estas procedíamos a examinar el contenido intestinal, (distribuido en varias cajas Petri), a la lupa, extrayendo con una pipeta capilar los gusanos adultos, para una posterior determinación mas exacta de su sexo y número. Operando de esta forma, la mucosa intestinal se desintegra espontaneamente, liberandose todos los gusanos aunque no posean movilidad.

3-5, -RECUESTO DEL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES

Los animales se sacrificaban a los 28 ó 30 días post-infección.

Una vez desvicerados, se eliminaban la cabeza y la piel aislando el tejido muscular. La carne se trituraba finamente con unas tijeras, y se colocaba en un matraz de 100c. c. , con jugo gástrico artificial

(pepsina 10.000 E/G-1%, Cl-1%, agua destilada 100ml.), en una estufa a 37°C.

El matraz se acoplaba a un agitador circular, (15r. p. m.), y se mantenía en la estufa durante 4 horas en constante agitación.

Al término de este plazo, el líquido obtenido tras la digestión, se centrifugaba a 4.000r. p. m. durante 5 minutos. Se eliminaba el sobrenadante, y el depósito se recogía en una probeta de 100ml. completando con solución salina o agua.

Cada ratón se digería independientemente.

A las probetas conteniendo el resultado de cada digestión, en el caso de que el recuento del número de larvas no fuera a efectuarse en un plazo breve de tiempo, se les añadían unos mililitros de formol al 5%, para evitar el deterioro de las larvas.

Con ayuda de un agitador magnético, o burbujeando aire con una pipeta, se mantenían las larvas en suspensión, y se tomaban de la probeta 12 muestras a diferente altura de 0'1 ml. cada una, repitiendo la agitación entre la toma de cada una de ellas. Estas muestras, colocadas en portitas de 6 excavaciones, se examinaban al microscopio, anotando el número de larvas existentes en cada una de ellas. Si los números obtenidos en cada caso, diferían poco unos de otros, nos permitían obtener refiriendo la media hallada para las doce muestras, a los 100ml. que teníamos, el número total de larvas que tenía el ratón, caso contrario el recuento volvía a repetirse.

3-6)-CARENCIAS VITAMINICAS

3-6-1)-DIETAS DEFICIENTES EN VITAMINAS

Han sido preparadas manualmente por nosotros. Una vez pesados todos los componentes de la dieta, se mezclaban varias veces para

procurar una perfecta homogeneización, y tras ello se pasaba la mezcla dos veces por un tamiz de malla muy fina.

Las dietas se preparaban cada dos días para evitar posible deterioro o desnaturalización de las vitaminas que contenían.

Diariamente, se cambiaba el alimento a los animales, sustituyendo el pienso anterior por nuevo, así como el vaso donde se colocaba este, y el frasco donde vivía el animal. Tanto los animales del grupo de experimentación como los del grupo control, recibían comida y agua "ad libitum", y se mantenían en idénticas condiciones.

Las dietas constan de unos componentes básicos, destinados a suplir las necesidades en proteínas, glúcidos y lípidos y unos suplementos vitamínico y mineral. La única diferencia entre las dietas normales y deficientes, estriba en la adición o no al pienso de la vitamina cuya deficiencia se pretende establecer.

Dieta deficiente en ácido pantoténico-

1-Composición , (Según Lih y col. 1951 y Ershoff y col. 1953)

Azucar	64
Caseína lavada	24
Aceite de oliva	8
Suplemento mineral	4
Suplemento vitamínico	+

La eficacia de esta dieta se basa en el hecho de que se utiliza únicamente caseína lavada como fuente de proteínas. El lavado de la caseína se realiza de la siguiente manera:

Se cubre la caseína con etanol ó metanol al 20-50% , a las 24 horas la solución se filtra y vuelve a añadirse alcohol fresco. El proceso se repite 3 ó mas veces. Finalmente, se añade etanol al 96% , que es tambien filtrado a las 48 horas.

Al término del proceso de lavado, la caseína se seca en una estufa, durante el tiempo necesario para que no queden residuos de alcohol , se tritura, tamiza, y mezcla con los demás componenets de la dieta.

2-Suplemento vitamínico.

Hemos utilizado dos soluciones vitamínicas, una de ellas acuosa y otra oleosa, según aconsejan Sos y Lödi (1957), para este tipo de experiencias.

Ambas soluciones se conservan en la nevera protegidas de la luz, hasta el momento de su adición a la dieta.

Diez mililitros de cada una de estas soluciones, cuya composición exponemos a continuación , se mezclan con un kilo de comida.

Solución oleosa-

Tocoferol	100mg.
Vitamina A	20.000 I. U. (6mg)
Vitamina D	1mg.
Vitamina K	2mg.
Aceite de oliva	5ml.
Aceite de hígado de bacalao	5ml.
Hidroquinona	100mg.

Solución acuosa -

Tiamina	20mg.	
Riboflavina	50mg.	
Niacina	100 mg.	
Piridoxina	20mg.	
Pantotenato	---	(100mg.)
Inositol	1g.	
Biotina	0.1mg.	
Acido fólico	0.2mg.	
Colina	1g.	
Alcohol etílico (96%)	20ml.	
Agua destilada	100ml.	

El pantotenato se agrega unicamente en la dieta no deficiente que se suministra a los animales control.

3-Suplemento mineral.

ClNa	300g.
PO ₄ HCa	300g.
Co ₃ Ca	150g.
CO ₃ HK	200g.
PO ₄ HK ₂	70g.
CO ₃ Mg	40g.
SO ₄ Fe	10g.
SO ₄ Mn	1g.
SO ₄ AlK	1g.
Cl ₂ Ca	1g.
IK	1g.
CO ₃ Zn	1g.
FNa	1g.

Dieta deficiente en vitamina E

1-Composición	%
Caseína	20g.
Almidón	49g.
Azúcar	10g.
Metionina	0'05g.
Aceite de hígado de bacalao	7g.
Celulosa en polvo	4g.
Suplemento mineral	5g.
Suplemento vitamínico	5g.

El aceite de hígado de bacalao posee un marcado efecto antitocoferol, por lo que su adición a la dieta, incrementa la deficiencia. En la dieta no deficiente, es sustituido por aceite de oliva suplementado con vitamina E, (10mg. por cada 7gr. de aceite). Como fuente de vitaminas A y D, se añaden por cada 70gr. de cada uno de los aceites, 3 gotas del preparado "Biomino A-D", (Lab. Alter S. A.).

2-Suplemento vitamínico

Tiamina	500mg.
Riboflavina	200mg.
Nicotinamida	2.000mg.
Piridoxina	200mg.
Pantotenato	300mg.
Almidón de trigo c. s. p.	1000g.

3-Suplemento mineral

Tiene igual composición que el utilizado en la dieta anterior.

3-6-2) CRITERIOS DE DEFICIENCIA EN VITAMINAS -

Hemos preferido, en aquellas experiencias en que se estudió el efecto sobre la infestación con T. spiralis de una deficiencia vitamínica, infestar los animales cuando la deficiencia era ya claramente patente.

Para evidenciar las deficiencias, nos hemos servido de algunos criterios generales de las manifestaciones de estas en el ratón de laboratorio, según indican entre otros Hoag y Dickie(1966), Sós y Szelényi(1974).

Deficiencia en ácido pantoténico -

Las consecuencias más importantes, que nos han servido para evidenciar esta deficiencia son las siguientes:

1-Acromotrichia. Este síntoma es más claro en animales de pelo oscuro, por lo que para comprobar que la dieta utilizada por nosotros era capaz de producirlo, dispusimos de un grupo control de ratones negros. La acromotrichia, fué patente a los 15 días de alimentar a los ratones negros con la dieta deficiente, evidenciándose gran diferencia de color entre estos animales, y aquellos, también de pelo negro que recibían una dieta equilibrada.

2-Pérdida de peso. Fué evidente durante todo el curso de la experiencia en aquellos animales que recibían la dieta deficiente. El cuadro nº 1, representa las variaciones de peso en los animales alimentados con dieta deficiente, y en los controles que reciben igual dieta adicionada con ácido pantoténico.

3-Rinitis exudativa hemorrágica. Este síntoma, que se presenta como una

inflamación hemorrágica alrededor de la nariz y de la boca, fué observado a los 12 días de ingerir la dieta deficiente en 8 de los animales, presentándose asociado con hemorragia e inflamación del rabo. A los 15 días de deficiencia, 23 de los animales presentaban ambos síntomas.

4-Alopecia- En algunos casos pérdida completa del pelo. Este fué uno de los síntomas mas característico, por presentarlo casi la totalidad de los animales, la pérdida del pelo fué total en el hocico y en áreas aisladas del lomo.

5-Ulceraciones y hemorragias en la mucosa del intestino delgado. Se observó en 7 de los animales, asociado con una extrema delgadez en el duodeno y yeyuno.

6-Degeneración grasa del hígado. Solo fué evidente en 3 ratones.

7-La deficiencia en ácido pantoténico, demostró ser tambien causa de abortos. Utilizamos 5 ratonas gestantes en un lote aparte para tratar de evidenciar este síntoma, en un período comprendido entre los 7 y 10 días de recibir la dieta deficiente, 4 de ellas abortaron.

8-En un estado ya prolongado de deficiencia, pudimos observar alteraciones nerviosas y falta de apetito.

Dado que la mayoría de los síntomas de deficiencia en ácido pantoténico eran claramente patentes a los 17 días de ser alimentados los ratones con la dieta deficiente, elegimos esta fecha para su infestación con T. spiralis .

Deficiencia en Vitamina E

En los animales con deficiencia en vitamina E, pudimos observar los siguientes síntomas:

1-Daños musculares. Los animales afectados, se muestran mas lentos que los del grupo control. A los 8 a 10 días de estar tomando la dieta

deficiente, los ratones se mostraban menos activos, aparentaban debilidad y lentitud de movimientos. A los 13 días, 3 de ellos murieron.

2-Daños hepáticos. En 13 de los ratones deficientes, se observó degeneración del hígado, con zonas necrosadas en 5 de ellos en el momento de la autopsia, es decir a los 42 días de recibir la dieta deficiente.

3-Pérdida de peso. Fue claramente patente en aquellos animales que ingerían la dieta deficiente. El cuadro nº II, muestra las variaciones de peso durante el curso de la experiencia en los animales deficientes y en los controles.

4-Alopecia. Se observó a partir de la primera semana de deficiencia, con pérdida parcial del pelo en el lomo y escasez general en el resto del cuerpo en 17 de los ratones empleados.

5-Reabsorción fetal. Para demostrar que nuestra dieta era capaz de producir este síntoma, utilizamos 5 ratonas en estado precoz de gestación : una de ellas murió a los 12 días de recibir la dieta deficiente, y ninguna de las restantes llevó a término su embarazo.

Dado que los síntomas de la deficiencia eran patentes a los 12 días de alimentar a los ratones con la dieta deficiente, se eligió esta fecha para su infestación con T. spiralis

3-7)- INFLUENCIAS HORMONALES

3-7-1)- GONADECTOMIA -

En las experiencias en que hemos utilizado animales gonadectomizados, la técnica empleada fué la siguiente:

Los ratones se castraban unos 20 días antes de la fe-

cha fijada para su infestación con T. spiralis.

La operación se realizaba utilizando éter como anestésico, y situando al animal inmovilizado en una plancha de madera. Las suturas se realizaban con seda trenzada esteril (nº00), y empleando agujas curvas T. B. /15.

En el ratón macho, se realizaban dos pequeñas aberturas a ambos lados del escroto, extrayendo los testículos. Una vez ligado el conducto eferente, se cortaba este, y cosiendo únicamente la piel, se cerraba la herida., (Láminas nº I, II, y III).

En la hembra, se extraían los ovarios por dos pequeñas incisiones a ambos lados de la columna vertebral. Tras ligar y cortar la unión con el oviducto, se cerraba la herida cosiendo la túnica muscular y posteriormente la piel, (Láminas nº IV y V).

En ambos casos, aplicabamos polvo de Azol sobre la herida y añadíamos al agua de bebida los dos días siguientes a la operación un poco de Tetraciclina en suspensión.

La mortalidad postoperatoria , fué nula en las hembras y de un 3% en los machos. El peso de los animales se vigilaba hasta el día de la infestación, siempre se operaban un número de animales superior al necesario para cada experiencia, utilizando en esta solo aquellos ratones que mostraban un claro aumento de peso y una perfecta recuperación.

CUADRO N°1-VARIACIONES DE PESO EN RATONAS INFESTADAS
CON TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH).

El grupo n° I , recibió una dieta deficiente en ácido pantoténico, desde 17 días antes de la infestación, hasta 30 días después de esta. El grupo n° II , recibió una dieta no deficiente en igual intervalo de tiempo.

	Peso medio, (gr.)	
	= I =	= II =
17 días A. I.	22 '3	21 '7
9 días A. I.	19 '2	20 '5
5 días A. I.	20	20
Infestación	18 '3	20 '7
5 días P. I.	17 '2	20 '6
10 días P. I.	14 '8	20 '9
15 días P. I.	12 '9	21
20 días P. I.	13 '8	20 '7
30 días P. I.	12 '9	19 '6

TABLA Nº1 - ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO DE
LOS RATONES DE LA EXPERIENCIA Nº3 , (Cuadro nº1)

I=Diferencia de peso entre los ratones deficientes en ácido pantoténico
y los testigos al comienzo de la experiencia

II=Diferencia de peso entre ambos grupos a los 30 días postinfestación.

= I =

Fuente de Variación

		G. L.	
Entre grupos -----	59	1	59
Error exp. - - - - -	1.225	59	207

F. exp. = 0'28

= II =

Fuente de Variación

Entre grupos - - - -	626'9	1	626'9
(deficiencia)			
Error exp. - - - - -	477'1	53	9

F. exp. = 69'65 * *

CUADRO Nº II VARIACIONES DE PESO EN RATONAS INFESTADAS
CON TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH).

El grupo nº I ;recibió una dieta deficiente en vitamina E, desde 12 días antes de la infestación, hasta 31 días después de esta. El grupo nº II ;recibió una dieta no deficiente en igual intervalo de tiempo.

	==== <u>Peso medio, (gr.)</u> =====	
	= I =	= II =
12 días A. I.	12´6	14´4
7 días A. I.	14´1	15´8
Infestación	15´1	18´2
7 días P. I.	14´2	17´4
10 días P. I.	14´9	15´8
15 días P. I.	13´6	15´9
21 días P. I.	13´3	17´2
28 días P. I.	13´9	17´6
31 días P. I.	13´5	17´2

TABLA Nº II-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO A : =I= PESO DE LOS RATONES DE LA EXPERIENCIA Nº2 EN EL DIA DE LA INFESTACION CON TRICHINELLA SPIRALIS. =II= PESO DE LOS RATONES DE LA EXPERIENCIA Nº2 A LOS 28 DIAS POSTINFESTACION.

=I=

Fuente de Variacion

Entre grupos - - - - 52'4 - - - - 1 - - - - 52'4

Error exp. - - - - 5.322'7 - - - - 60 - - - - 88'7

F. exp. = 0'59

F. teor. (0'05) = 1'84

F. teor. (0'01) = 2'39

=II=

Fuente de Variacion

Entre grupos - - - - 14.061 - - - - 1 - - - - 14.061

Error exp. - - - - 5.691 - - - - 55 - - - - 103'4

F. exp. = 135'9 * *

F. teor. (0'05) = 1'88

F. teor. (0'01) = 2'47

LAMINAS I, II y III

ORQUIDETOMIA

LAMINAS Nº IV y V- OVARIOTOMIA.

3-7-2)-ADMINISTRACION DE HORMONAS -

En aquellas experiencias en que hemos administrado hormonas, hemos utilizado propionato de testosterona y diacetato de dihidroestilboestrol.

Las dosis adecuadas las hemos determinado experimentalmente para nuestra cepa de ratones, ya que, según la bibliografía consultada, las dosis varían ampliamente de una a otra cepa de ratones. Los intervalos de tiempo durante los cuales hemos administrado estas hormonas, se indican en cada experiencia.

El propionato de testosterona, es la forma mas idonea para administración parenteral de aquellas en que puede hallarse la testosterona. Hemos empleado el preparado "Testovirón", (Shering), en ampollas que contienen 10mg. de propionato de testosterona en 1ml. de solución oleosa estéril.

La dosis utilizada en el caso del propionato de testosterona, fué la de $25\mu\text{gr.}/\text{gr.}$ de peso, dosis que demostró ser efectiva para llevar el peso de las glándulas vesiculares al valor normal en ratones machos castrados, como se indica mas adelante.

El diacetato de dihidroestilboestrol, es un estrógeno sintético de gran actividad, la esterificación del estrógeno da lugar a una mayor duración de su actividad y a una mejor tolerancia. Hemos partido del preparado "Sintestrol", (Lab. Abelló), en ampollas que contienen 3 mg. de la hormona en solución oleosa estéril.

La dosis de diacetato de dihidroestilboestrol utilizada ha sido la de $6\mu\text{gr.}/\text{gr.}$ de peso, dosis cuya efectividad se justifica en el próximo apartado.

Ambas hormonas se administraban a los ratones por vía intramuscular, en el muslo, empleando para ello una jeringa calibrada a la centésima de mililitro. Las inyecciones se realizaban con extrema lentitud y en diferentes puntos para evitar posibles enquistamientos.

3-7-3)-CRITERIOS DE INFLUENCIA HORMONAL -

Hemos querido asegurarnos, en cada caso de que las hormonas utilizadas en nuestras experiencias, eran activas y de que las dosis eran adecuadas.

Para ello, y además de estudiar las variaciones de peso de cada animal durante el curso del tratamiento, variaciones estas que se indican en cada una de las experiencias, hemos procurado obtener todos aquellos datos que puedan indicarnos la estimulación androgénica ó estrógenica en un determinado lote de animales.

Sin necesidad de recurrir a otros métodos mas complejos, las variaciones de peso de ciertas glándulas, exteemadamente sensibles a la ausencia o presencia de andrógenos y estrógenos, son utilizadas por algunos autores para este fin.

Así, en los ratones machos, las glandulas vesiculares, situadas en la parte anterior de la uretra y a ambos lados de la vejiga urinaria, degeneran con la castración o administración de estrógenos, mientras que la administración de testosterona, incrementa su peso y volumen, en relación directa con la dosis de hormona utilizada, (Lámina nº VI).

El cuadro nº III, representa los pesos húmedos finales de las glándulas vesiculares en tres lotes de ratones. El lote nº1 está formado por animales machos intactos, los lotes 2 y 3 por ratones machos

castrados 50 días antes, el lote nºII, no ha recibido tratamiento alguna , mientras que los ratones pertenecientes al grupo III, han sido tratados con propionato de testosterona a la dosis de 25 μ gr./gr. de peso durante ese intervalo de tiempo y cada 3 días. Aunque los valores son de por sí indicativos, el Análisis de Varianza, nos confirma, que si bien la diferencia entre los valores obtenidos para los machos normales y los castrados tratados con propionato de testosterona no es significativa, si lo es, (altamente significativa), la diferencia entre los valores obtenidos para los machos castrados sin tratamiento y los otros dos lotes de animales, (Tabla nº III).

El cuadro nº IV representa los pesos húmedos de las glándulas vesiculares en dos lotes de ratones, uno de ellos, (nºI), de machos normales, y el otro de machos tratados con diacetato de dihidroestibestrol, a la dosis de 6 μ gr./gr. de peso durante 40 días y a intervalos de 7 días. Puede observarse en él, la degeneración sufrida por las glándulas vesiculares, cuyo peso en algunos animales es similar al hallado para los machos castrados, (\bar{x} =32) ; el Análisis de Varianza, (Tabla nº IV) confirma la diferencia entre las medias.

En los ratones hembras, las glándulas del clítoris, a ambos lados de este en el tejido conjuntivo subcutáneo, son sensibles a las alteraciones en las hormonas gonadales, y su aumento de peso puede utilizarse como índice de la respuesta a propionato de testosterona.

El cuadro nº V , representa los pesos húmedos de la glándula del clítoris en dos lotes de ratonas, los formados por hembras normales, (nºI), y hembras tratadas con propionato de testosterona, a la dosis de 25 μ gr./gr. , durante 50 días y a intervalos de 3 días. Puede observarse el aumento de peso producido por el tratamiento, siendo la diferencia entre las dos series de valores altamente significativa, (Tabla nº V)

Las llamadas glándulas prepuciales en los ratones machos, similares a las del clítoris en las hembras, degeneran con la administración de estrógenos. El cuadro nº VI representa los pesos húmedos de las glándulas prepuciales en dos lotes de ratones; el lote nº1, está formado por machos tratados con diacetato de dihidroestilboestrol, el lote nº2, por machos normales sin tratamiento. En los machos tratados con el estrógeno, las glándulas han sufrido una degeneración, siendo la diferencia entre ambas series de valores altamente significativa, como lo demuestra el Análisis de Varianza.

Igualmente sensibles a las alteraciones hormonales, son las glándulas submandibulares. Compactas y anchas, estas glándulas se extienden por delante de la tráquea, en la región ventral del cuello. Su color y tamaño varía según el sexo del animal, siendo mayores y más opacas en los machos, ($\bar{x}=143$ mg. para las hembras, y $\bar{x}=228$ mg. para los machos en nuestra cepa de ratones). (Lafinas nº VII y VIII).

Las glándulas submandibulares son sensibles a dosis mínimas de andrógenos, y a algunas dosis de estrógenos. La inyección de testosterona en las hembras, causa un aumento notable del peso de la glándula submandibular, y cambia su estructura a tipo macho.

El cuadro nº VII representa los pesos húmedos de la glándula submandibular en ratonas normales y en ratonas tratadas con propionato de testosterona, (25 gr. / gr. de peso), durante 50 días y a intervalos de 3 días. Puede observarse que el tratamiento ha producido un aumento de peso de la glándula submandibular, acercándolo al valor obtenido para los ratones machos, ($\bar{x}=228$). El Análisis de Varianza confirma la diferencia entre ambas series de valores como altamente significativa.

La administración de estrógenos, produce en los rato-

nes machos una degeneracion de los testiculos, segun se muestra en el cuadro nºVIII que representa los pesos húmedos de estos, siendo el grupo nºI, el formado por ratones machos normales, y el numero II, el formado por machos normales tratados con diacetato de dihidroestilboestrol, a la dosis de 6 gr. /gr. de peso durante 40 días y a intervalos de 7 días.

La respuesta relativa del útero a la administracion de estrógenos, se mide por peso humedo. El cuadro nº IX, representa los pesos humedos del útero en dos lotes de animales. El lote nºI, está formado por hembras normales, el lote nºII, por hembras tratadas con diacetato de dihidroestilboestrol, a la dosis de 6 gr. /gr. de peso durante 30 días y cada 4 días. El Análisis de Varianza, confirma la diferencia entre ambas series de valores como altamente significativa.

Así, con este apartado, "Criterios de influencia hormonal", hemos pretendido :

1-Justificar que en la cepa de ratones empleada, los productos hormonales del comercio que hemos utilizado producen los efectos previsibles.

2-Determinar en esta misma cepa de ratones, y con dichos productos hormonales, la dosis eficaz y el tiempo de tratamiento mas conveniente para que produzcan sus efectos fisiológicos.

3-Asegurarnos de que las posibles variaciones en la infestabilidad para T. spiralis, pueden atribuirse al efecto fisiológico de las hormonas empleadas.

LAMINA Nº VI-Degeneración de las glándulas vesiculares de los testículos en un ratón macho tratado con diacetato de dihidroestibestrol, (izquierda), en comparación con un ratón macho no tratado de igual edad y peso.

LAMINA Nº VII- Situación de la glándula submandibular en un ratón hembra.

LAMINA Nº VIII- Glándulas submandibulares aisladas: Izquierda de un ratón macho, derecha de un ratón hembra.

CUADRO Nº III PESO HUMEDO, (mg.), DE LAS GLANDULAS VESICULARES EN TRES LOTES DE RATONES.

Lote nº I-25 machos normales ; peso medio 24 gr.

Lote nº II-26 machos castrados ; peso medio 23'5gr.

Lote nº III-27 machos castrados, tratados con propionato de testosterona,
peso medio 22'8gr.

	= I =	= II =	= III =
	159	29	139
	184	43	197
	119	32	156
	147	29	139
	170	38	205
	157	39	215
	315	37	159
	160	35	147
	198	16	150
	343	25	248
	251	25	284
	166	40	217
	141	34	285
	131	21	319
	96	56	210
	120	33	73
	89	27	167
	134	28	151
	378	25	166
	122	38	132
	250	55	299
	105	28	143
	220	23	230
	121	29	228
	86	20	240
	-	27	136
	-	-	347
Suma	4.362	832	5.382
Media	174mg.	32mg.	199mg.

TABLA N^o III ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LAS GLANDULAS VESICULARES EN TRES LOTES DE RATONES, (Cuadro n^o III)

Lote n^oI-machos normales ;Lote n^oII-machos castrados ;Lote n^oIII-machos castrados tratados con propionato de testosterona.

Fuente de Variación

Entre grupos		G. L.		F.
Global, (I, II, III,)	----- (392. 267)-----	(2)-----	(196. 133)---	(39'16)
II → I y III	----- 389. 600-----	1 -----	389. 600 --	77'79**
I → III	----- 2. 667 -----	1 -----	2. 667--	0'53
<u>Error experimental</u>	----- 375. 664 -----	75 -----	5. 008	

CUADRO N^o IV-PESO HUMEDO, (mg.), DE LAS GLANDULAS VESICULARES EN DOS LOTES DE RATONES.

Lote n^o I-21 machos normales ; peso medio 25⁴gr. Lote n^o II-21 machos tratados con diacetato de dihidroestilbestrol, (6^rgr./gr.); peso medio 24⁷gr.

	= I =	= II =
	272	95
	226	112
	336	144
	208	72
	314	102
	120	54
	299	106
	109	44
	276	35
	232	130
	198	117
	206	57
	160	40
	247	66
	134	48
	154	44
	202	12
	292	91
	186	125
	172	55
	363	122
	-----	-----
Suma	4.706	1.671
	-----	-----
Media	224	79

TABLA N^o IV-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LAS GLANDULAS VESICULARES EN DOS LOTES DE RATONES, (Cuadro n^o IV)

Lote n^o I-machos normales. Lote n^o II-tratados con diacetato de dihidroestilboestrol

Fuente de Variación

Entre grupos - - - - 220. 182 - - - 1 - - - - 220. 182
(tratamiento)

Error exp.- - - - - 128. 388 - - 40 - - - - 3. 209

F. exp. = 68 '59 * *

CUADRO N^o V - PESO HUMEDO , (mg.) DE LAS GLANDULAS DEL CLITORIS EN DOS LOTES DE RATONAS

Lote n^o I-26 ratonas normales ; peso medio 19gr. Lote n^o II-28 ratonas tratadas con propionato de testosterona, (25-gr./gr.); peso medio 19 2gr.

	= I =	= II =
	-----	-----
	9	56
	11	39
	23	27
	14	45
	16	50
	28	65
	12	59
	18	76
	17	39
	23	41
	18	41
	9	59
	11	40
	14	53
	15	16
	22	52
	10	23
	13	41
	9	58
	14	74
	19	62
	9	28
	12	56
	15	88
	10	66
	2	50
	-	54
	-	69
	-----	-----
Suma	373	1.427
	-----	-----
Media	14	50

TABLA N^o V-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LAS GLANDULAS DEL CLITORIS EN DOS LOTES DE RATONAS , (Cuadro n^o v)

Lote n^o I-normales; Lote n^o II-tratadas con propionato de testosterona

Fuente de Variación:

Entre grupos - - - - 18.077 - - 1 - - - - 18.077
(tratamiento)

Error exp. - - - - - 8.285 - - 52 - - - - 159

F. exp. = 113'4 ¹ ^{*}

CUADRO N^oVI-PESO HUMEDO, (mg.) DE LAS GLANDULAS PREPU-
CIALES EN DOS LOTES DE RATONES .

Lote n^oI-21 machos normales ; peso medio 25⁴gr. Lote n^oII-21 machos
tratados con diacetato de dihidroestilboestrol, (6,gr./gr.); peso medio 24⁷gr.

	= I =	= II =
	157	59
	96	184
	151	61
	97	52
	111	55
	58	91
	153	82
	113	56
	88	20
	82	57
	126	71
	51	54
	90	45
	166	37
	110	52
	54	63
	132	35
	113	62
	105	51
	134	65
	103	52
	-----	-----
Suma	2. 290	1. 304
	-----	-----
Media	109	62

TABLA N^o VI-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LAS GLANDULAS PREPUCIALES DE DOS LOTES DE RATONES. (Cuadro n^o VI)

Lote n^o I-machos normales. Lote n^o II-tratados con diacetato de dihidro-estilboestrol.

Fuente de Variación

Entre grupos - - - - 23.147 - - - 1 - - - - 23.147
(tratamiento)

Error exp. - - - - 41.847 - - 40 - - - - 1.047

F. exp. = 22.12 * *

CUADRO N^oVII-PESO HUMEDO, (mg.), DE LAS GLANDULAS SUBMANDIBULARES EN DOS LOTES DE RATONAS

Lote n^oI-27 ratonas normales

Lote n^oII-27 ratonas tratadas con propionato de testosterona

	= I =	= II =
	-----	-----
	124	241
	155	184
	151	199
	89	166
	175	228
	136	209
	131	196
	191	237
	162	267
	130	179
	207	206
	115	258
	187	158
	128	222
	147	173
	160	166
	129	113
	194	71
	84	191
	161	116
	158	240
	132	92
	150	141
	125	227
	84	224
	138	103
	131	150
	-----	-----
Suma	3. 874	4. 957
	-----	-----
Media	143	183

TABLA N^oVII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LAS GLANDULAS SUBMANDIBULARES EN DOS LOTES DE RATONAS. (Cuadro n^oVII)

Lote n^oI-normales. Lote n^oII-tratadas con propionato de testosterona

Fuente de Variación

Entre grupos - - - - 21.720 - - 1 - - - - 21.720
(tratamiento)

Error exp. - - - - 97.692 - - 52 - - - - 1.878

F. exp. = 11.56^{**}

CUADRO N^oVIII- PESO HUMEDO, (mg.); DE LOS TESTICULOS EN DOS LOTES DE RATONES.

Lote n^oI-21 machos normales ; peso medio 25 ⁴gr.

Lote n^oII-21 machos tratados con diacetato de dihidroestilboestrol
peso medio 24 ⁷gr.

	=I=	=II=
	-----	-----
	153	196
	169	117
	215	167
	163	111
	230	168
	207	109
	216	180
	184	104
	143	109
	171	140
	220	107
	199	197
	162	129
	173	177
	186	154
	214	56
	257	167
	205	183
	188	86
	172	109
	168	143
	-----	-----
Suma	3. 995	2. 909
	-----	-----
Media	190	138

TABLA N^oVIII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DE LOS TESTICULOS EN DOS LOTES DE RATONES.
(Cuadro n^o VIII).

Lote n^oI-normales. Lote n^oII-tratados con diacetato de dihidroestilboestrol.

Fuente de Variación

Entre grupos - - - - 27.925 - - 1 - - - 27.925
(tratamiento)

Error exp. - - - - - 40.586 - - 40 - - - - 1.014

F. exp. = 27.52

CUADRO Nº IX-PESO HUMEDO DEL UTERO EN DOS LOTES DE RATONAS. Lote nºI-30 ratonas normales ;peso medio 23gr. Lote nºII-30 ratonas tratadas con diacetato de dihidroestilboestrol;peso medio 22'9gr.

	= I =	= II =
	154	561
	293	229
	329	324
	123	378
	179	178
	96	198
	94	305
	215	147
	179	317
	139	257
	116	229
	137	248
	102	246
	84	216
	360	177
	213	302
	345	247
	137	301
	91	199
	186	285
	300	214
	142	321
	93	296
	168	315
	203	156
	124	283
	180	302
	89	265
	215	286
	272	237
Suma	5.358	8.019
Media	178mg.	267mg.

TABLA N° IX-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL PESO HUMEDO DEL UTERO EN DOS LOTES DE RATONAS, (Cuadro n° IX)
 Lote n°I-normales. Lote n°II-tratadas con diacetato de dihidroestilboestrol.

Fuente de Variación

Entre grupos - - - 118.015 - - 1 - - - 118.015
 (tratamiento)

Error exp. - - - - 372.338 - - 58 - - - 6.419

F. exp. = 18.38 * *

3-8)-METODOS ESTADISTICOS

Los test estadísticos de comparación, permiten someter hipótesis a pruebas objetivas, independientes de la apreciación subjetiva del experimentador. La respuesta se da siempre en términos de probabilidad, nunca de certidumbre.

Todos los test estadísticos, consisten en someter a juicio la hipótesis de que ciertas características de poblaciones, por ejemplo sus medias de peso, son iguales; es lo que se llama la hipótesis nula. Si el test demuestra que la probabilidad en favor de la hipótesis nula no es superior al 5%, ($P=0.05$), se dice que hay diferencia significativa entre las dos poblaciones. Si la diferencia es menor del 1%, ($P=0.01$), se dice que la diferencia es altamente significativa.

Nosotros, hemos preferido comparar nuestros datos por medio del Análisis de Varianza, pues este método posee evidentes ventajas sobre el test de la "t" de Student. Los cálculos mediante el Análisis de Varianza, son más cortos, más rápidos y menos sujetos a error, pues se evita la extracción de raíces cuadradas. Este método, permite además estudiar mejor la estructura interna de una experiencia, al calcular tanto la variación entre grupos, como la variación en el interior de ellos.

3-8-1)-ANALISIS DE VARIANZA

Comparación entre dos series de resultados A Y B

Las fórmulas empleadas han sido :

1-Cálculos preliminares

Suma de los datos

$$SX = SX_A + SX_B$$

Suma de los cuadrados de los datos $SX^2 = SX_A^2 + SX_B^2$

Término de Corrección $C = \frac{(SX)^2}{n}$

n = número total de datos

2-Variación total

$$SX_t^2 = SX^2 - C$$

Grados de libertad ; G.L. = $(n_a + n_b) - 1$

n_a = número de datos serie A

n_b = número de datos serie B

3-Variación entre grupos

$$SX_E^2 = \frac{[SX_A]^2}{n_a} + \frac{[SX_B]^2}{n_b} - C$$

Grados de libertad ; G.L. = $2 - 1 = 1$

4-Variación en el interior de grupos

$$SX_I^2 = SX^2 - \left[\frac{[SX_A]^2}{n_a} + \frac{[SX_B]^2}{n_b} \right]$$

Grados de libertad ; G.L. = $(n_a - 1) + (n_b - 1)$

5-ANALISIS-Disposición de los datos

Fuente de Variación

Entre grupos (tratamiento, sexo etc.) - - - - SX_E - - - - G.L. - - - - S_E

Error experimental* - - - - SX_I - - - - G.L. - - - - S_I

$$F. \text{ experimental} = \frac{S_E}{S_I}$$

* En el "Error experimental", se acumulan todas las fluctuaciones accidentales de los individuos, es lo que se denomina Variación Biológica.

El valor experimental de "F", se compara con el teórico en las tablas de Snedecor, (límites máximos de significancia de la distribución F), para $P=0.05$ y $P=0.01$. Ello, nos permite concluir si la diferencia entre las dos series A y B, respecto a una característica determinada es :

no significativa - - - - $F. \text{ exp.} < F. \text{ teor.} (0.05)$
 significativa - - - - $F. \text{ exp.} = F. \text{ teor.} (0.05)$
 altamente significativa - - - - $F. \text{ exp.} \geq F. \text{ teor.} (0.01)$

Frecuentemente, se coloca un asterisco, (*), tras el valor encontrado para F, cuando sobrepasa el nivel de probabilidad del 5%, y dos asteriscos, (**), cuando sobrepasa el nivel del 1%.

3-8-2)-INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

El test del Análisis de Varianza, Indica simplemente que existe una diferencia entre las medias de dos grupos de resultados, pero no nos dice de que magnitud es esa diferencia. Por ello, y en cada caso, hemos determinado el intervalo de confianza de esa diferencia entre las medias.

La diferencia entre una diferencia observada "d", y la real "δ" entre las medias de dos poblaciones, nos lleva a estimar la desviación-tipo de esa diferencia. La averiguamos por la fórmula :

$$s_d = \sqrt{s^2 \frac{n_a + n_b}{n_a \cdot n_b}}$$

siendo s^2 la varianza común entre las dos poblaciones.

Buscamos en las tablas de Student, el valor "t", para $(n_a + n_b - 2)$ grados de libertad, y en el nivel de probabilidad $P=0.05$. Los límites del intervalo de confianza, serán :

$$d + t(s_d) \quad \text{y} \quad d - t(s_d)$$

de modo, que podremos afirmar, que existe un 95% de confianza de que el verdadero valor de la diferencia entre las medias de esas dos poblaciones, está comprendido entre estos dos valores.

3-8-3)-COEFICIENTE DE VARIACION

El coeficiente de Variación, se emplea para conocer la dispersión de una o varias distribuciones. Es la relación, expresada generalmente bajo la forma de porcentaje, de la desviación-tipo a la media de los valores obtenidos.

Las fórmulas empleadas , son las siguientes :

1-Término de Corrección

$$C = \frac{(SX)^2}{n}$$

2-Suma de cuadrados

$$Sx^2 = SX^2 - C$$

3-Varianza

$$s^2 = Sx^2 / (n - 1)$$

4-Desviación-tipo

$$s = \sqrt{s^2}$$

5-Error-tipo de la media

$$s_m = s / \sqrt{n}$$

6-Coeficiente de Variación

$$C. V. = \frac{s_m \cdot 100}{\bar{x}}$$

El Coeficiente de Variación, lo hemos empleado en aquellos casos en que utilizamos la técnica de dosificación del inóculo por homogeneización de la carne triquinosa , y en general para conocer el grado de dispersión de una distribución.

4) RESULTADOS

EXPERIENCIA Nº1

En esta experiencia, comparamos la capacidad infestante para el ratón albino de dos cepas diferentes de T. spiralis.

La cepa LASO-59-LH, se mantiene en el Instituto Lopez-Neyra desde diciembre de 1959, por pases sucesivos en ratones blancos, es decir durante 16 años, lo que supone, puesto que las infestaciones se realizan generalmente cada dos meses, unos 100 pases por el mismo hospedador.

La cepa POLE-74-LH, se aisló el 15-2-74, de carne de cerdo procedente de Pola de Lena, (Asturias). Fué difícil conseguir infestaciones en ratones, y fué necesario esperar al 3º pase para hacer una comparación con la otra cepa, pues en las dos primeras experiencias, la mayoría de los animales no se infestaron. A la tercera infestación experimental, el aumento de la infestividad fué muy notable.

Utilizamos para esta experiencia dos lotes de ratones, cada uno de ellos constituido por 30 animales machos, de edad y peso aproximados. Los pesos medios iniciales y finales de ambos lotes de ratones, fueron :23 gr. y 24 3/4 gr. para los infestados con POLE-74-LH ; 23gr, y 21 3/4 gr. para los infestados con LASO-59-LH.

La dosificación del inóculo, se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Ninguno de los animales falleció durante el curso de la experiencia. A los 30 días postinfestación, se sacrificaron para realizar el conteo del número de larvas musculares.

CUADRO N^oX-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS INFESTADOS CON DOS CEPAS DIFERENTES DEL PARASITO; LASO-59-LH y POLE-74-LH

LASO-59-LH		POLE-74-LH	
Ratón N ^o	Numero de larvas	Ratón N ^o	Numero de larvas
1	10.500	1	10.000
2	11.300	2	9.000
3	12.500	3	6.166
4	13.166	4	13.000
5	9.800	5	11.500
6	11.600	6	20.500
7	7.600	7	7.000
8	13.166	8	14.600
9	12.666	9	5.833
10	19.000	10	4.600
11	14.333	11	5.166
12	3.666	12	18.600
13	15.800	13	11.000
14	11.500	14	12.600
15	12.333	15	3.833
16	24.000	16	3.166
17	9.888	17	7.500
18	11.833	18	7.666
19	12.833	19	3.000
20	19.500	20	2.000
21	6.500	21	2.666
22	14.000	22	8.166
23	12.000	23	5.833
24	7.666	24	330
25	16.833	25	3.000
26	9.833	26	9.166
27	16.166	27	2.000
28	9.666	28	8.166
29	12.833	29	2.500
30	24.166	30	5.000
Suma 30	386.647	30	223.557
Media \bar{X} =	12.888		7.452

TABLA Nº X-ANÁLISIS DE VARIANZA APLICADO AL NÚMERO DE LARVAS MUSCULARES EN RATONES MACHOS INFESTADOS CON TRICHINELLA SPIRALIS, POLE-74-LH Y LASO-59-LH. (Experiencia Nº 1)

Fuente de Variación	G	L	F. teor.
Entre grupos (diferente cepa del parásito)	443.307.801	1	443.307.801
Error exp.	1.303.524.069	58	22.474.552'9
F. exp. = 19'72			F. teor. (0'05) = 1'85
			F. teor. (0'01) = 2'41

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$5.436 + 2 \cdot 0017(1.224) = 7.886$$

$$5.436 - 2 \cdot 0017(1.224) = 2.986$$

TABLA N^oXI-CALCULO DE LA DESVIACION-TIPO DE LA MEDIA Y DEL COEFICIENTE DE VARIACION APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES EN RATONES INFESTADOS CON DOS CEPAS DIFERENTES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (Experiencia n^o1).

LASO-59-LH

$$Sx^2 = SX^2 - C = 603.571.461. '4$$

$$s^2 = 20.812.809$$

$$s = \sqrt{s^2} = 4.562$$

$$s_m = \frac{s}{\sqrt{n}} = 832 '9$$

$$C. V. = \frac{832 '9 \cdot 100}{12.888} = 6 '46\%$$

POLE-74-LH

$$Sx^2 = SX^2 - C = 699.952.607$$

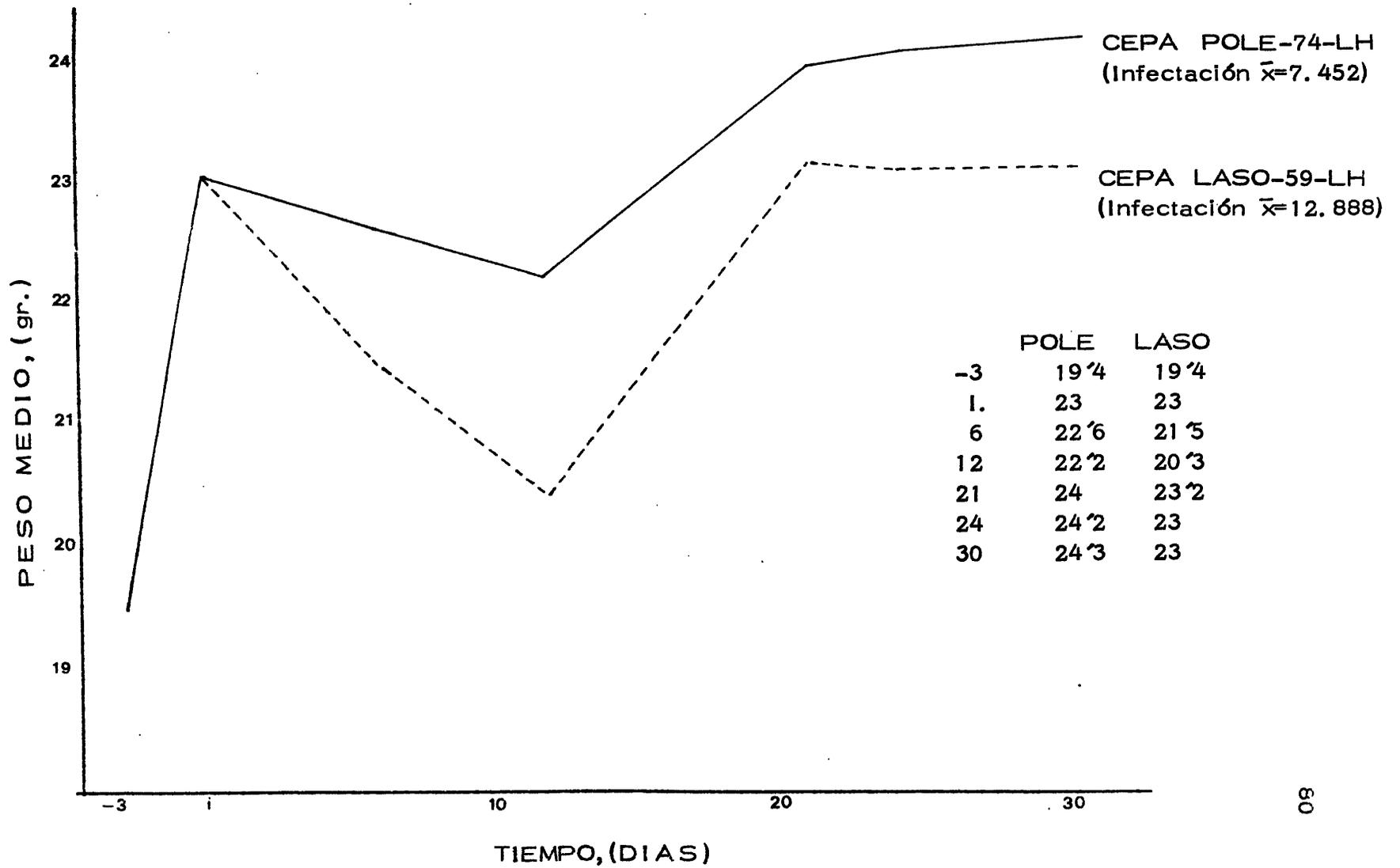
$$s^2 = 24.136.296 '7$$

$$s = \sqrt{s^2} = 4.913$$

$$s_m = \frac{s}{\sqrt{n}} = 896 '9$$

$$C. V. = \frac{896 '9 \cdot 100}{7.452} = 12 '03\%$$

GRAFICA Nº 1- VARIACIONES DE PESO EN RATONES MACHOS INFESTADOS CON DOS CEPAS DIFERENTES DE TRICHINELLA SPIRALIS



EXPERIENCIA N°2

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de T. spiralis, (LASO-59-LH), que se obtienen en ratones hembras alimentados con una dieta deficiente en vitamina E, con el obtenido en animales hembras control, que reciben una dieta equilibrada.

Utilizamos la dosis infestante de 300 larvas, y por ello, la dosificación del inóculo, se hizo por la técnica de homogeneización de la carne triquinosa. Se tomaron 5 muestras de carne homogeneizada, de : 19, 11, 26, 20, y 5 mgr. , contándose en ellas, respectivamente, 56, 32, 77, 64, y 15 larvas, con lo que obtuvimos un Coeficiente de Variación del 16%.

Entre los dos lotes de animales, no existía al comienzo de la experiencia diferencia de peso, (tabla n°2). En el cuadro n°2, se indican las variaciones de peso en los dos lotes de animales durante el curso de la experiencia, al finalizar esta, los animales del grupo deficiente, presentan una diferencia de peso altamente significativa, (tabla n°2), con respecto al grupo control.

Cinco de los animales del grupo deficiente, murieron antes del día fijado para su sacrificio; 3 de ellos, antes del día de la infestación, siendo sustituidos por otros mantenidos con igual dieta, los otros dos, n°s 6 y 19, a los 20 y 21 días postinfestación, respectivamente, hallándose en ellos, 1.300 larvas musculares y 30 adultos, y 3.250 larvas musculares y 43 adultos.

Uno de los ratones del grupo control, (n°11), tuvo que ser eliminado del análisis estadístico, por presentar un tumor interno.

Los animales se sacrificaron a los 31 días postinfestación.

CUADRO N.º XI- NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES HEMBRAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA DEFICIENTE EN VITAMINA E Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

Ratones deficientes		Ratones testigos	
Ratón N.º	Numero de larvas	Ratón N.º	Numero de larvas
1	29.500	1	50.200
2	42.000	2	18.000
3	30.800	3	26.000
4	29.100	4	36.000
5	13.680	5	33.300
6	----	6	25.100
7	21.000	7	60.300
8	24.600	8	4.317
9	20.000	9	22.500
10	7.300	10	17.700
11	4.600	11	----
12	19.300	12	85.000
13	26.100	13	35.800
14	3.293	14	12.600
15	1.833	15	29.100
16	43.600	16	23.363
17	35.800	17	18.800
18	26.100	18	29.600
19	----	19	68.000
20	9.500	20	3.800
21	6.800	21	12.100
22	24.494	22	55.300
23	18.819	23	33.000
24	28.000	24	29.790
25	68.500	25	27.300
26	43.600	26	29.500
27	22.000	27	26.800
28	56.000	28	2.800
29	28.600	29	16.100
30	56.600	30	14.000
Suma	741.519		796.170
Media	26.483		27.454

TABLA N°XII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE
LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS (LASO-59-LH)
EN RATONES HEMBRAS ALIMENTADOS CON UNA DIETA DEFICI-
CIENTE EN VITAMINA E Y EN ANIMALES CONTROL=

Fuente de Variación	G. L.
Entre grupos - - - - - (dieta deficiente)	69. 322. 100 - - - - 1 - - 89. 322. 100
Error exp. - - - - -	15. 755. 050. 948 - - - 54 - - 291. 760. 202

F. exp. = 0'30

F. teor. (0'05) = 1'90

F. teor. (0'01) = 2'49

EXPERIENCIA Nº3

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de T. spiralis, obtenidas en ratones hembras alimentadas con una dieta deficiente en ácido pantoténico, con el obtenido para ratonas alimentadas con una dieta no deficiente.

Al comienzo de la experiencia, la diferencia de peso entre ambos grupos de animales, no era significativa, (tabla nºI.), a partir de los 15 días de ingerir la dieta deficiente, este grupo de animales, comenzó a disminuir de peso, haciéndose la diferencia entre los pesos de los dos lotes de ratones, altamente significativa, y permaneciendo así hasta el final de la experiencia.

En los animales deficientes, se observó, una mayor permanencia de los adultos intestinales, (Cuadro nºXVI.), que permanecieron en 21 de los animales, hasta 30 días postinfestación, mientras que en solo 2 de los ratones con dieta normal, se observaron adultos intestinales en ese tiempo.

Cinco de los ratones deficientes, murieron antes de que pudiera realizarse un conteo del número de larvas musculares, 2 de ellos al día siguiente de la infestación, otro a los 5 días postinfestación, localizándose en él 50 adultos intestinales, (17♂; 33♀), y los restantes, a los 15 y 16 días postinfestación, hallándose en ellos respectivamente, 14 adultos, (1♂; 13♀), y 58 adultos, (20♂; 38♀).

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

CUADRO N^o XII-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES HEMBRAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA DEFICIENTE EN ACIDO PANTOTENICO Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

Ratones deficientes		Ratones testigos	
Ratón N ^o	Numero de larvas	Ratón N ^o	Numero de larvas
1	1.000	1	2.660
2	5.733	2	1.580
3	10.867	3	330
4	----	4	910
5	1.000	5	2.410
6	1.910	6	1.080
7	1.500	7	1.580
8	----	8	9.830
9	1.412	9	1.500
10	2.830	10	3.160
11	330	11	10.750
12	1.160	12	830
13	250	13	2.241
14	1.830	14	660
15	----	15	2.160
16	660	16	1.000
17	1.200	17	1.250
18	----	18	4.000
19	680	19	1.000
20	830	20	2.667
21	1.200	21	2.083
22	2.660	22	1.500
23	----	23	1.750
24	583	24	750
25	1.083	25	1.417
26	1.167	26	1.917
27	750	27	667
28	1.417	28	1.000
29	2.750	29	1.417
30	1.500	30	3.500
Suma	46.302		67.599
Media	1.852		2.253

CUADRO N° XIII-NUMERO DE ADULTOS DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), A LOS 30 DIAS POSTINFESTACION EN RATONAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA DEFICIENTE EN ACIDO PANTOTENICO Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES.

Ratones deficientes				Ratones testigos			
Ratón n°	Adultos			Ratón n°	Adultos		
	Machos	Hembras	Total		Machos	Hembras	Total
1	3	19	22	1	-	-	-
2	7	27	34	2	1	2	3
3	4	17	21	3	-	-	-
4	7	16	23	4	-	-	-
5	16	30	46	5	-	-	-
6	2	1	3	6	-	-	-
7	-	-	-	7	-	-	-
8	16	30	47	8	-	-	-
9	-	1	1	9	-	-	-
10	4	2	6	10	-	-	-
11	4	16	20	11	-	-	-
12	1	2	3	12	-	-	-
13	1	5	6	13	-	-	-
14	1	2	3	14	11	7	18
15	-	-	-	15	-	-	-
16	5	13	18	16	-	-	-
17	15	26	41	17	-	-	-
18	2	46	48	18	-	-	-
19	-	4	4	19	-	-	-
20	7	19	26	20	-	-	-
21	-	-	-	21	-	-	-
22	6	9	15	22	-	-	-
23	-	-	-	23	-	-	-
24	1	4	5	24	-	-	-
25	18	31	49	25	-	-	-
-----				26	-	-	-
Total	120	321	441	27	-	-	-
-----				28	-	-	-
				29	-	-	-
				30	-	-	-

				Total	12	9	21

TABLA N°XIII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE
LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES
HEMBRAS DEFICIENTES EN ACIDO PANTOTENICO Y EN RATONES
HEMBRAS CONTROL. (Experiencia n°3).

Fuente de Variacion

G. L.

Entre grupos - - - 2. 195. 147 - - - 1 - - - - 2. 195. 147
 (diferente dieta)

Error exp. - - - 282. 610. 637 - - - 53 - - - - 5. 332. 276

F. exp.= 0'41

F. teor. (0'05)= 1'94

F. teor. (0'01)= 2'58

EXPERIENCIA Nº4

En esta experiencia comparamos la capacidad infestante de Trichinella spiralis, para ratones albinos machos y hembras.

Dispusimos para ello de dos lotes de animales, el lote nºI, formado por 30 ratones machos de un peso medio de 24gr. , el lote nºII, por 30 hembras de peso medio 22.7 gr. Al comienzo de la experiencia, no existía diferencia significativa, entre los pesos de ambos grupos de animales.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo.

Ninguno de los animales falleció durante el curso de la experiencia. La dosis infestante, fué de 100 larvas., y los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO NoXIV-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES MACHOS Y EN RATONES HEMBRAS

Ratones machos		Ratones hembras	
Ratón No	Numero de larvas	Ratón No	Numero de larvas
1	10.000	1	12.000
2	12.480	2	6.500
3	10.800	3	7.166
4	10.600	4	1.600
5	9.888	5	12.166
6	12.800	6	16.333
7	13.600	7	2.833
8	14.600	8	9.800
9	18.500	9	4.333
10	11.800	10	12.000
11	27.300	11	3.000
12	12.100	12	7.300
13	11.600	13	13.300
14	4.100	14	11.300
15	4.000	15	7.000
16	20.300	16	10.000
17	16.600	17	1.000
18	19.800	18	5.300
19	22.000	19	3.055
20	5.800	20	6.600
21	3.600	21	8.500
22	10.500	22	10.600
23	9.800	23	4.600
24	10.000	24	11.000
25	7.600	25	11.800
26	5.333	26	6.000
27	13.166	27	4.225
28	23.000	28	5.833
29	12.500	29	10.000
30	18.833	30	14.300
Suma	383.000		239.444
Media	12.767		7.981

TABLA N°XIV-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS Y HEMBRAS. (Exp. n°4).

Fuente de Variacion

G. L.

Entre grupos - - - - - 343. 472. 104 - - - - 1 - - - - 343. 472. 104
(sexo)

Error exp. - - - - - 1. 478. 359. 959 - - - 58 - - - - 25. 488. 965

F. exp. = 13'47^{**} F. teor. (0'05) = 1'85

F. teor. (0'01) = 2'41

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$4.786 + 2'0017 (1.303) = 7.395$$

$$4.786 - 2'0017 (1.303) = 2.176$$

EXPERIENCIA N°5

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones machos castrados con el obtenido para ratones machos intactos.

Los animales, se castraron 20 días antes de la infestación.

Los ratones castrados, a diferencia de los del grupo control, no experimentaron una caída de peso permanente a los pocos días de la infestación, sino que tras descender ligeramente de peso a los 4 o 5 días post-infestación, aumentaron de peso hasta el fin de la experiencia.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron ;24 y 21 9gr. para los machos normales, y 23 5 y 24 8gr. para los castrados.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo, siendo la dosis infestante 100 larvas.

Dos de los ratones castrados, murieron antes de finalizar la experiencia, a los 2 y 3 días de la infestación.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO N^o XV - NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHIINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES MACHOS CASTRADOS Y EN RATONES TESTIGOS NORMALES

Ratones castrados		Ratones testigos	
Ratón N ^o	Numero de larvas	Ratón N ^o	Numero de larvas
1	10.500	1	12.916
2	10.500	2	12.833
3	13.500	3	8.666
4	4.600	4	17.083
5	----	5	12.583
6	6.600	6	22.500
7	7.000	7	17.416
8	9.600	8	9.666
9	19.100	9	13.083
10	15.166	10	12.083
11	15.000	11	8.250
12	5.166	12	19.333
13	2.000	13	15.083
14	1.400	14	19.000
15	4.666	15	6.666
16	4.666	16	13.666
17	10.498	17	14.083
18	2.500	18	21.833
19	2.833	19	13.833
20	1.333	20	9.083
21	16.833	21	20.083
22	----	22	12.000
23	18.066	23	16.833
24	6.666	24	12.833
25	10.666	25	14.583
26	4.166	26	15.250
27	5.000	27	9.250
28	3.833	28	5.957
29	9.000	29	8.495
30	9.166	30	11.500
Suma	230.024		406.443
Media	8.215		13.548

TABLA N°XY-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS NORMALES Y CASTRADOS(Exp. n°5).

Fuente de Variacion

Entre grupos - - - - - 411. 895. 910 - - 1 - - 411. 895. 910
(gonadectomía)

Error exp. - - - - - 1. 278. 047. 981 - - - 56 - - 22. 822. 285

* * F. teor. (0'05)= 1'90
F. exp. = 18'04
F. teor. (0'01)= 2'47

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$5.333 \pm 2'0033 (1.255) = 7.847$$

$$5.333 - 2'0033 (1.255) = 2.819$$

EXPERIENCIA Nº 6

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones machos castrados a los que se administra propionato de testosterona, con el obtenido para ratones machos castrados sin tratamiento.

Los animales se castraron 20 días antes de la infestación. A los 7 días de la operación, y durante toda la experiencia cada 3 días, se le administraba a los ratones del grupo tratado propionato de testosterona, bajo la forma del preparado "Testoviron", intramuscularmente a la dosis de 25 μ gr./gr.

Tres de los ratones del grupo tratado, murieron durante el curso de la experiencia, observándose en dos de ellos una dilatación excesiva de la vejiga urinaria.

La dosificación del inóculo, se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron ;22 '8 y 23 '3gr. para los ratones tratados y 23 '1 y 24 '5gr para los testigos.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO Nº XVI- NUMERO DE LARVAS DE TRICHINELLA SPIRALIS
, (LASO-59-LH), EN RATONES MACHOS CASTRADOS TRATADOS CON
PROPIONATO DE TESTOSTERONA Y EN RATONES CASTRADOS SIN
TRATAMIENTO

<u>Ratones tratados</u>		<u>Ratones testigos</u>	
<u>Ratón Nº</u>	<u>Numero de larvas</u>	<u>Ratón Nº</u>	<u>Numero de larvas</u>
1	36.500	1	7.786
2	19.333	2	6.045
3	9.000	3	1.531
4	15.833	4	13.493
5	----	5	1.498
6	14.166	6	2.583
7	12.333	7	5.500
8	16.500	8	13.600
9	----	9	6.045
10	20.500	10	----
11	13.166	11	7.787
12	21.500	12	2.333
13	13.500	13	----
14	10.500	14	5.100
15	----	15	10.000
16	16.166	16	6.716
17	42.166	17	----
18	14.333	18	5.000
19	15.500	19	9.000
20	15.166	20	9.750
21	11.166	21	9.666
22	16.666	22	9.666
23	13.166	23	10.083
24	13.500	24	----
25	4.833	25	7.250
26	18.833	26	11.750
27	6.666	27	10.666
28	15.580	28	9.250
29	3.666	29	15.000
30	6.166	30	9.750
<u>Suma</u>	<u>416.324</u>	<u>Suma</u>	<u>206.848</u>
<u>Media</u>	<u>15.419</u>	<u>Media</u>	<u>7.955</u>

TABLA N^o XVII ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS CASTRADOS TRATADOS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA Y EN RATONES MACHOS CASTRADOS SIN TRATAMIENTO

Fuente de Variacion

		G. L.	
Entre grupos	737. 855. 546	1 - - -	737. 855. 546
(tratamiento)			
Error exp.	2. 112. 236. 798	- 51 - - - -	41. 416. 407 '8

F. exp. = 17 '81^{**} F. teor. (0 '05) = 1 '95
F. teor. (0 '01) = 2 '59

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$7.464 + 2 '0077 (1.768 '2) = 11.014$$

$$7.464 - 2 '0077 (1.768 '2) = 3.914$$

EXPERIENCIA N°7

En esta experiencia, comparamos el número y sexo de los adultos intestinales de Trichinella spiralis, que se recogen en el intestino delgado de ratones machos castrados y de ratones machos normales a los 7 y 16 días postinfestación.

Dispusimos para ello de dos lotes de 24 animales cada uno. El lote n°I, está formado por 24 ratones machos castrados 52 días antes de la infestación. El lote n°II, por 24 machos normales. El peso medio era similar en ambos lotes de animales al comienzo de la experiencia.

En los cuadros n°s XXII y XXIII, expresamos el número total de adultos en cada animal, así como el porcentaje de machos y hembras.

La dosificación del inóculo, se hizo por la técnica de recuento directo, siendo la dosis infestante 100 larvas.

CUADRO N.º XVII-NUMERO Y SEXO DE LOS ADULTOS DE TRICHINELLA
SPIRALIS RECOGIDOS DEL INTESTINO DELGADO DE RATONES
MACHOS CASTRADOS (I) Y DE RATONES MACHOS NORMALES (II)
A LOS 7 DIAS POSTINFESTACION.
DOSIS INFESTANTE -100larvas.

=I=Machos castrados - (peso medio 26.5gr.)

Ratón nº	Numero de adultos	% Machos	% Hembras
1	25	4	96
2	49	36.7	63.2
3	50	32	68
4	41	19.5	80.4
5	78	20.5	79.4
6	46	41.3	58.7
7	40	35	65
8	72	34.7	65.3
9	39	38.4	61.6
10	77	37.6	62.3
11	63	42.8	57.2
12	65	41.5	58.4
Valor medio	$\bar{x} = 53.7$	$\bar{x} = 32\%$	$\bar{x} = 67.9\%$

=II=Machos normales - (peso medio 23gr.)

Ratón nº	Numero de adultos	% Machos	% Hembras
1	47	12.7	87.2
2	63	22.2	77.7
3	82	15.8	84.1
4	84	29.7	70.3
5	64	32.8	67.1
6	68	17.6	82.4
7	58	17.2	82.7
8	63	25.3	74.7
9	85	31.7	68.2
10	41	34.1	65.8
11	43	34.8	65.1
12	60	13.3	86.6
Valor medio	$\bar{x} = 63.1$	$\bar{x} = 23.9\%$	$\bar{x} = 75.9\%$

CUADRO N.º XVII-NUMERO Y SEXO DE LOS ADULTOS DE TRICHINELLA
SPIRALIS RECOGIDOS DEL INTESTINO DELGADO DE RATONES
MACHOS CASTRADOS (I) Y DE RATONES MACHOS NORMALES(II)
A LOS 16 DIAS POSTINFESTACION.
DOSIS INFESTANTE-100larvas

=I=Machos castrados-(Peso medio 27.7gr.)

Raton nº	Numero de adultos	% Machos	% Hembras
1	22	54.5	45.4
2	15	80	20
3	19	26.3	73.6
4	28	25	75
5	24	33.3	66.6
6	23	34.7	65.3
7	27	55.5	44.4
8	26	38.4	61.5
9	30	40	60
10	28	32.1	67.9
11	22	36.3	63.6
12	24	37.5	62.5
Valor medio	$\bar{x} = 24$	$\bar{x} = 41.1\%$	$\bar{x} = 58.8\%$

=II=Machos normales-(Peso medio 27.9gr.)

Ratón nº	Numero de adultos	% Machos	% Hembras
1	13	-	100
2	61	39.3	60.6
3	24	70.8	29.1
4	4	25	75
5	27	33.3	66.6
6	17	35.2	64.7
7	35	28.5	71.4
8	12	83.3	16.6
9	14	85.7	14.2
10	31	35.4	64.5
11	19	36.8	63.1
12	23	26	73.9
Valor medio	$\bar{x} = 23.3$	$\bar{x} = 41.6\%$	$\bar{x} = 58.3\%$

TABLA N^o XVIII ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE ADULTOS INTESTINALES DE TRICHINELLA SPIRALIS RECOGIDOS DEL INTESTINO DELGADO DE RATONES MACHOS CASTRADOS Y DE RATONES MACHOS NORMALES A LOS 7(=I=) Y 16(=II=) DIAS POSTINFESTACION. (Experincia n^o).

= I =

Fuente de Variación

		G. L.	
Entre grupos	- - - 532	- - - 1	- - - 532
(castración)			
Error exp.	- - - 5.652	- - - 22	- - - 256

F. exp. = 2'07

F. teor. (0'05) = 2'82

F. teor. (0'01) = 4'46

= II =

Fuente de Variación

		G. L.	
Entre grupos	- - - 3	- - - 1	- - - 3
(castración)			
Error exp.	- - - 2.579	- - - 22	- - - 117'2

F. exp. = 0'02

F. teor. (0'05) = 2'82

F. teor. (0'01) = 4'46

EXPERIENCIA Nº 8

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones machos normales sin tratamiento, y en ratones machos normales tratados con diacetato de dihidroestilboestrol. La dosis utilizada fué la de 6 gr./gr. de peso, y se administró a partir de 12 días antes de la infestación, y durante toda la experiencia a intervalos de 5 días.

Uno de los ratones del grupo tratado, falleció a los 3 días postinfestación, localizándose en él 71 adultos de T. spiralis, (17 machos; 54 hembras).

Dos de los ratones del grupo control, fallecieron a los 11 y 13 días postinfestación, localizándose en ellos, respectivamente, 28, (7 machos; 21 hembras) y 6, (1 macho; 5 hembras) adultos de T. spiralis.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron ;24⁷ y 26⁵ gr. para los tratados y 26¹ y 29⁷gr para los testigos.

Los animales se sacrificaron a los 28 días postinfestación.

CUADRO N.º XIX-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES MACHOS TRATADOS CON DIACETATO DE DIHIDROESTILBOESTROL Y EN RATONES MACHOS SIN TRATAMIENTO

Ratones tratados		Ratones testigos	
Ratón N.º	Numero de larvas	Ratón N.º	Numero de larvas
1	7.833	1	5.333
2	11.833	2	26.833
3	14.833	3	10.500
4	7.333	4	17.000
5	12.916	5	11.083
6	24.916	6	8.000
7	2.000	7	1.000
8	20.500	8	15.000
9	9.000	9	24.333
10	2.666	10	23.750
11	1.416	11	8.167
12	15.583	12	30.916
13	1.167	13	27.677
14	8.250	14	18.000
15	7.250	15	----
16	10.416	16	22.500
17	25.667	17	----
18	10.167	18	16.667
19	----	19	21.167
20	8.788	20	8.250
21	11.000	21	19.167
22	7.250	22	12.800
23	9.333	23	11.167
24	1.583	24	27.833
25	6.250	25	21.000
26	8.500	26	32.667
27	13.485	27	12.333
28	6.833	28	5.167
29	1.000	29	9.500
30	2.167	30	12.000
Suma	269.935		459.800
Media	9.308		16.421

TABLA N^oXVIII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS TRATADOS CON DIACETATO DE DIHIDROESTILBOESTROL Y EN RATONES MACHOS SIN TRATAMIENTO

Fuente de Variación

		G. L.	
Entre grupos - - - -	720. 819. 441 - - - -	1 - - - -	720. 819. 441
(tratamiento)			

Error exp. - - - -	3. 115. 993. 358 - - - -	55 - - - -	56. 654. 424
--------------------	--------------------------	------------	--------------

	F. teor. (0'05)= 1'90
F. exp. = 12'72	

	F. teor. (0'01)= 2'49
--	-----------------------

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$7.113 + 2'0041 (1.992'8) = 11.106'7$$

$$7.113 - 2'0041 (1.992'8) = 3.119'3$$

EXPERIENCIA Nº 9

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones machos castrados infestados con larvas procedentes de ratones machos castrados, con el obtenido en machos normales infestados con larvas procedentes de ratones machos castrados.

La dosificación del inóculo se hizo por recuento directo, y a partir de las larvas diafragmáticas de los ratones castrados de la experiencia nº 5. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los ratones del grupo castrado, lo fueron 20 días antes de la infestación.

Ninguno de los animales falleció durante el curso de la experiencia.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron : 22² y 22gr. para los castrados, y 23⁵ y 23⁸gr. para los normales.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO N^o XX - NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONES CASTRADOS Y EN RATONES NORMALES INFESTADOS AMBOS GRUPOS CON LARVAS PROCEDENTES DE RATONES CASTRADOS

<u>Ratones castrados</u>		<u>Ratones normales</u>	
<u>Ratón N^o</u>	<u>Numero de larvas</u>	<u>Ratón N^o</u>	<u>Numero de larvas</u>
1	8.000	1	2.666
2	2.833	2	11.666
3	2.500	3	9.333
4	4.500	4	1.400
5	10.857	5	13.500
6	3.500	6	6.666
7	----	7	9.000
8	15.800	8	3.400
9	21.500	9	2.000
10	13.000	10	6.333
11	19.333	11	333
12	4.166	12	1.333
13	2.166	13	2.166
14	18.000	14	6.333
15	16.666	15	7.166
16	6.333	16	2.200
17	10.166	17	1.833
18	7.333	18	13.833
19	7.666	19	6.500
20	2.833	20	13.500
21	15.833	21	10.833
22	3.333	22	2.000
23	7.333	23	3.666
24	9.833	24	2.000
25	11.000	25	11.666
26	2.166	26	1.400
27	1.500	27	7.333
28	2.333	28	11.000
29	2.333	29	6.500
30	2.166	30	14.500
31	1.250	31	13.500
<u>Suma</u>	<u>236.232</u>	<u>145.559</u>	
Media	7.874	4.695	

TABLA N^o XIX ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS CASTRADOS INFESTADOS CON LARVAS PROCEDENTES DE MACHOS CASTRADOS Y EN RATONES MACHOS NORMALES INFESTADOS CON LARVAS PROCEDENTES DE CASTRADOS.

Fuente de Variacion

		G. L.	
Entre grupos (castracion)	2.090.787	1	2.090.787
Error exp. ..	2.387.489.011	59	40.465.915

F. exp.= 0'05

F. teor. (0'05)= 1'85

F. teor. (0'01)= 2'41

EXPERIENCIA Nº 10

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis obtenido en ratones machos infestados con larvas que han pasado por dos generaciones de ratones machos castrados, con el obtenido para ratones machos infestados con larvas que proceden de ratones machos normales.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo, utilizando para la infestación de los ratones del grupo nº I, las larvas diafragmáticas de los ratones castrados de la experiencia nº 9.

Dos de los ratones del grupo nº I, murieron antes de finalizar la experiencia, a los 13 y 14 días postinfestación.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos lotes de ratones fueron: 24 y 24 gr. para el lote nº I, y 23.5 y 24.5 gr. para el lote nº II.

La dosis infestante fue de 100 larvas.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO N^o XXI-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN DOS LOTES DE RATONES MACHOS

NORMALES. El lote n^oI, ha sido infestado con larvas que provienen de ratones machos castrados, infestados a su vez con larvas obtenidas de machos castrados; El lote n^oII, ha sido infestado con larvas que provienen de machos intactos

Lote n ^o I		Lote n ^o II	
Ratón N ^o	Numero de larvas	Ratón N ^o	Numero de larvas
1	14. 000	1	12. 083
2	833	2	12. 250
3	9. 333	3	10. 500
4	10. 833	4	10. 083
5	3. 500	5	10. 000
6	6. 166	6	9. 500
7	----	7	14. 583
8	3. 333	8	11. 333
9	3. 333	9	14. 083
10	12. 833	10	8. 167
11	10. 500	11	12. 167
12	7. 833	12	10. 750
13	13. 000	13	8. 250
14	9. 500	14	10. 083
15	4. 333	15	5. 667
16	7. 166	16	8. 000
17	2. 333	17	12. 250
18	8. 666	18	16. 250
19	7. 833	19	11. 500
20	4. 833	20	16. 750
21	13. 500	21	13. 917
22	3. 000	22	8. 667
23	11. 666	23	11. 416
24	1. 666	24	13. 500
25	----	25	11. 833
26	5. 666	26	5. 750
27	13. 500	27	10. 000
28	11. 333	28	20. 833
29	10. 166	29	12. 250
30	12. 333	30	8. 250
Suma	222. 991		340. 665
Media	7. 963		11. 355

TABLA N°XX-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES MACHOS INFESTADOS CON LARVAS QUE HAN PASADO POR DOS GENERACIONES DE MACHOS CASTRADOS Y EN RATONES MACHOS INFESTADOS CON LARVAS QUE PROCEDEN DE MACHOS INTACTOS

Fuente de Variación

		G. L.	
Entre grupos - - - -	166.588.141 - - - -	1 - - -	166.588.141
(procedencia de las larvas)			
Error exp. - - - - -	756.365.733'6 - -	56 - - -	13.506.530'9

$$F. \text{ exp.} = 12'33^{* *}$$

$$F, \text{ teor. } (0'05) = 1'85$$

$$F, \text{ teor. } (0'01) = 2'47$$

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$3.392 + 2'0033 (965) = 5.325$$

$$3.392 - 2'0033 (965) = 1.459$$

EXPERIENCIA Nº 11

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones hembras castradas con el obtenido para hembras normales.

Los ratones del grupo castrado, lo fueron 30 días antes de la infestación.

Una de las hembras castradas, falleció a los 6 días de la infestación, localizándose en su intestino delgado, 25 adultos de T. spiralis (5 machos; 20 hembras).

Tres ratones del grupo control, fallecieron a los 12, 14, y 17 días postinfestación, localizándose en ellas, 1.833, 1.000 y 5.166 larvas musculares, respectivamente.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fue de 100 larvas.

En cuatro de los ratones castrados, no pudimos evidenciar larvas musculares.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron: 22 y 25,6 gr. para los castrados, y 23,1 y 22,8 para los testigos.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO N^o XXII NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONAS CASTRADAS Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

Ratonas castradas		Ratonas testigos	
Ratón N ^o	Numero de larvas	Ratón N ^o	Numero de larvas
1	0	1	1.250
2	0	2	4.833
3	0	3	2.083
4	315	4	8.250
5	500	5	8.500
6	78	6	12.667
7	400	7	8.833
8	0	8	10.333
9	173	9	10.250
10	583	10	2.083
11	667	11	5.666
12	84	12	6.833
13	1.083	13	5.416
14	334	14	---
15	250	15	5.750
16	334	16	2.416
17	750	17	10.083
18	1.583	18	9.333
19	---	19	7.333
20	583	20	9.583
21	667	21	9.750
22	250	22	4.583
23	84	23	8.250
24	1.167	24	---
25	917	25	4.916
26	500	26	5.750
27	2.500	27	5.333
28	833	28	8.000
29	4.917	29	5.250
30	583	30	---
Suma	20.135		183.327
Media	694		6.789

EXPERIENCIA Nº 12

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis obtenido en ratones hembras normales y en ratones hembras tratadas con diacetato de dihidroestilboestrol. La dosis de este estrógeno utilizada fué la de 6 gr./gr. de peso, desde el día de la infestación hasta el día del sacrificio y a intervalos de 3 días.

El peso medio de los animales de ambos lotes era de 17 gr., lo que podría explicar el elevado número de larvas musculares obtenido en ambos grupos, dado que es generalmente admitido que los ratones jóvenes, desarrollan mayor número de larvas de T. spiralis que los viejos.

Dos de los animales tratados, murieron durante el curso de la experiencia, a los 3 y 15 días postinfestación.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos lotes de ratones fueron : 17.2 gr. y 22.9 gr, para los tratados y 17 y 23 gr. para los testigos.

Los animales se sacrificaron a los 28 días postinfestación.

CUADRO N° XXIII-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONAS TRATADAS CON DIACETATO DE DIHIDROESTILBOESTROL Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

Ratonas tratadas		Ratonas testigos	
Ratón N°	Numero de larvas	Ratón N°	Numero de larvas
1	29.580	1	38.837
2	18.667	2	44.770
3	44.000	3	60.480
4	11.825	4	65.059
5	15.000	5	25.200
6	33.200	6	20.500
7	----	7	40.875
8	17.503	8	39.738
9	23.333	9	63.373
10	29.242	10	29.750
11	35.583	11	17.482
12	41.183	12	24.797
13	27.150	13	31.958
14	33.540	14	17.050
15	54.853	15	42.450
16	37.447	16	24.258
17	11.700	17	57.120
18	31.875	18	32.017
19	20.943	19	52.883
20	42.240	20	54.945
21	16.049	21	62.890
22	24.333	22	75.000
23	17.307	23	40.687
24	24.453	24	23.567
25	----	25	40.260
26	27.500	26	43.358
27	32.500	27	63.180
28	29.700	28	58.298
29	54.493	29	23.193
30	22.533	30	18.131
Suma	807.732		1.232.106
Media	28.847		41.070

TABLA N°XXI-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES HEMBRAS TRATADAS CON DIACETATO DE DIHIDROESTILBOESTROL Y EN RATONES HEMBRAS SIN TRATAMIENTO

Fuente de Variacion

G. L.

Entre grupos -- 2.163.617.678 -- 1 -- 2.163.617.678
(tratamiento)

Error exp. - - -11.843.151.674-- - 56 - - - 211.484.851

F. exp. = 10'23**

F. teor. (0'05) = 1'88

F. teor. (0'01) = 2'47

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$12.223 + 2'0033 (3.821) = 19.878$$

$$12.223 - 2'0033 (3.821) = 4.568$$

EXPERIENCIA Nº 13

En esta experiencia, comparamos el número de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones hembras normales y en ratonas a las que se administra propionato de testosterona. La dosis utilizada fué, a partir del preparado "Testoviron", la de 25 $\frac{1}{2}$ gr. por gramo de peso del animal

La administración del propionato de testosterona, en el grupo de animales tratados, se hizo en el intervalo comprendido entre el día anterior a la infestación, y 27 días después de esta, a la dosis indicada y cada 4 días.

Uno de los animales perteneciente al grupo control, falleció a los 15 días postinfestación.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron : 19 $\frac{1}{2}$ y 21 $\frac{1}{4}$ gr. para el grupo tratado y 19 $\frac{1}{5}$ y 20 $\frac{1}{2}$ gr. para el grupo testigo.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO Nº XXIV-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONAS TRATADAS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

<u>Ratones tratados</u>		<u>Ratones testigos</u>	
<u>Ratón Nº</u>	<u>Número de larvas</u>	<u>Ratón Nº</u>	<u>Número de larvas</u>
1	4.500	1	8.083
2	2.833	2	8.416
3	25.500	3	10.000
4	6.666	4	7.500
5	4.166	5	5.333
6	1.166	6	9.166
7	2.500	7	7.416
8	14.500	8	11.000
9	11.333	9	7.833
10	11.500	10	10.666
11	1.166	11	11.166
12	833	12	8.916
13	6.000	13	6.166
14	10.166	14	9.750
15	3.833	15	10.333
16	2.000	16	7.583
17	3.000	17	11.083
18	2.000	18	11.750
19	2.000	19	9.166
20	7.333	20	8.000
21	5.500	21	9.833
22	3.833	22	9.416
23	25.333	23	8.583
24	3.500	24	10.500
25	10.833	25	9.583
26	17.000	26	---
27	7.833	27	7.750
28	19.000	28	8.166
29	10.333	29	10.666
30	9.666	30	7.416
Suma	235.826		261.239
Media	7.861		9.008

TABLA n° XXII-ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE
LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES
HEMBRAS TRATADAS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA Y
EN RATONES HEMBRAS SIN TRATAMIENTO

Fuente de Variacion

		G. L.	
Entre grupos - -	19.412.335 - -	1 - -	19.412.335
(tratamiento)			

Error exp. - -	1.393.528.187 -	57 - -	24.447.862
----------------	-----------------	--------	------------

	F. teor. (0'05) = 1'88
F. exp. = 0'79	F. teor. (0'01) = 2'44

EXPERIENCIA Nº 14

En esta experiencia, comparamos el numero de larvas musculares de Trichinella spiralis que se desarrollan en ratones hembras normales, con el obtenido para hembras tratadas con propionato de testosterona.

La dosis de propionato de testosterona utilizada , fué la de 25 gr. /gr. , y a diferencia de la experiencia nº 13, la administracion se hizo a partir de 20 días antes de la infestacion, hasta 28 días despues y a intervalos de 4 días.

Uno de los ratones del grupo control murió el día de la infestación, otros dos a los 10 y 12 días postinfestación. Uno de los ratones del grupo tratado, falleció a consecuencia de una inyección.

La dosificación del inóculo se hizo por la técnica de recuento directo. La dosis infestante fué de 100 larvas.

Los pesos medios iniciales y finales de ambos grupos de ratones fueron :19 y 22 '3gr. para el grupo tratado y 19 y 20 '4gr. para el grupo testigo.

Los animales se sacrificaron a los 30 días postinfestación.

CUADRO N^oXXV-NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS, (LASO-59-LH), EN RATONAS TRATADAS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA Y EN RATONAS TESTIGOS NORMALES

Ratones tratados		Ratones testigos	
Ratón N ^o	Número de larvas	Ratón N ^o	Número de larvas
1	14.336	1	8.250
2	10.417	2	21.166
3	8.003	3	13.500
4	25.422	4	16.416
5	19.833	5	21.583
6	10.377	6	5.666
7	6.167	7	10.583
8	2.417	8	19.833
9	11.250	9	19.250
10	3.833	10	----
11	21.916	11	13.916
12	8.500	12	5.416
13	4.000	13	7.666
14	12.500	14	11.083
15	30.000	15	----
16	3.917	16	2.166
17	35.583	17	7.166
18	12.583	18	2.333
19	7.083	19	8.803
20	9.833	20	16.333
21	10.833	21	15.916
22	----	22	9.478
23	12.250	23	9.333
24	12.769	24	3.430
25	8.583	25	10.290
26	5.417	26	5.325
27	25.410	27	----
28	24.167	28	20.479
29	36.534	29	6.333
30	17.833	30	7.083
Suma	411.766		298.076
Media	14.199		11.040

TABLA Nº XXIII ANALISIS DE VARIANZA APLICADO AL NUMERO DE LARVAS MUSCULARES DE TRICHINELLA SPIRALIS EN RATONES HEMBRAS NORMALES Y EN RATONES HEMBRAS TRATADAS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA

Fuente de Variacion

		G. L.	
Entre grupos (tratamiento)	139.529.589	1	139.529.589
Error exp.	3.426.378.250	54	63.451.449

$$F. \text{exp.} = 2'19^*$$

$$F. \text{teor. (0'05)} = 1'91$$

$$F. \text{teor. (0'01)} = 2'53$$

INTERVALO DE CONFIANZA DE LA DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS

$$3.159 + 2'0049 (2.129) = 7.429$$

$$3.159 - 2'0049 (2.129) = 1.111$$

5)-DISCUSION

5-1)-DIFERENCIA ENTRE DOS CEPAS DE TRICHINELLA SPIRALIS

Uno de los factores, de acuerdo con Shanta y Meerovich, (1967), que contribuyen a las divergencias entre los resultados obtenidos por los diversos investigadores que trabajan en triquinosis experimental, es la cepa de T. spiralis usada.

Al igual que ocurre con otros parásitos, existen diferencias de infestividad entre las diversas cepas de triquina. Ello hace, que en el laboratorio, se seleccionen de un modo natural aquellas cepas mas infestivas.

Nosotros, hemos conseguido una nueva cepa de T. spiralis mantenida sobre el ratón albino, la cepa POLE-74-LH. La dificultad de adaptación de esta cepa al ratón, se puso de manifiesto en las dos primeras infestaciones experimentales, donde fué imposible conseguir que se infectaran el número necesario de animales para realizar una experiencia comparativa con nuestra cepa antigua LASO-59-LH. Sin embargo, a la tercera infestación experimental, el número de larvas musculares de T. spiralis obtenido en cada animal, (Cuadro nº X), fué considerable, aproximandose, e incluso superando, en algunos ratones los valores obtenidos para la cepa LASO en iguales circunstancias.

A pesar de ello, el número medio de larvas musculares obtenido con POLE-74-LH, ($\bar{x}=7.452$), siguió siendo muy inferior al conseguido con LASO-59-LH, ($\bar{x}=12.888$), señalando el Análisis de Varianza, (Tabla nºX), una diferencia altamente significativa entre ambas series de valores, en el sentido de una menor infestividad para POLE-74-LH.

De la grafica nº1, se deduce, que durante el periodo de 30 días que

duró la experiencia, aunque los dos grupos de ratones siguen análogas variaciones en las gráficas de peso, en los infestados con la cepa LASO-59-LH, los valores medios de los pesos descienden más que en los infestados con la cepa POLE-74-LH, lo que estimamos puede ser debido a la mayor capacidad infestante de la cepa LASO para el ratón albino de nuestro criadero.

Además de ello, al averiguar el Coeficiente de Variación de cada una de las dos series de valores, (Tabla nºXI), al objeto de conocer el grado de dispersión de ambas distribuciones, hallamos que la cepa LASO-59-LH, no sólo es mucho más infestiva, sino que produce una infestación más uniforme, de modo que el Coeficiente de Variación hallado para ella, (C. V. = 6'46%), es muy inferior al obtenido para la cepa POLE-74-LH, (C. V. = 12'03%).

Así, dada por una parte la menor infestividad de la cepa POLE-74-LH, y por otra el hecho de que la variabilidad individual de infestación sea mayor con ella que con LASO-59-LH, decidimos utilizar esta última para la realización de nuestras experiencias.

La demostración del hecho señalado por Shad y col. (1967), de que la infestividad de dos cepas llega a igualarse tras sucesivos pases en un mismo animal de laboratorio, requiere posteriores estudios, cuando la cepa POLE-74-LH, (actualmente en su 7º pase), haya pasado, en varias generaciones por nuestros ratones de laboratorio.

5-2)-INFLUENCIA DE LA DIETA VITAMINICA DEL HOSPEDADOR

Entre las vitaminas cuya carencia en el ratón puede establecerse experimentalmente, y cuya influencia en el curso de la triquinosis puede ser estudiada, hemos elegido dos: la vitamina E, y el ácido pantotónico ó vitamina Bx.

El estudio del efecto de la carencia o deficiencia en vitamina E, proviene de la idea, que previamente teníamos establecida de realizar experimentos

sobre la influencia de las hormonas sexuales del hospedador, en el grado de infectación con T. spiralis alcanzado por éste, por lo que nos pareció interesante comprobar si esta carencia podría afectar en algún modo, dada su influencia sobre los órganos sexuales en los animales de laboratorio. Además de ello, la carencia o deficiencia en vitamina E, afecta las fibras musculares estriadas produciendo un síndrome muscular de tipo distrófico, por lo que podría pensarse afectaría de algún modo el normal establecimiento de las larvas de T. spiralis en las fibras musculares.

La elección del ácido pantoténico, se basó por una parte en la ausencia de datos biliográficos sobre el estudio de la influencia de su carencia en las infestaciones con helmintos, y en los trastornos que ocasiona su carencia. Signos característicos de carencia en ácido pantoténico en los animales de laboratorio, son, entre otros, los que afectan al intestino delgado :Atonía, dilatación, disminución de los movimientos peristálticos, ulceraciones y hemorragias en la mucosa et.c. Dado, que una parte del ciclo de vida de T. spiralis transcurre en el intestino delgado del hospedador, fase que se extiende desde unas horas después de la infestación hasta unas dos semanas después, en el ratón de laboratorio, es lógico pensar que estas alteraciones, pudieran afectar de algún modo el normal desarrollo de los adultos y jóvenes larvas de triquina.

5-2-1)-DEFICIENCIA EN VITAMINA E

Zaiman, (1940), señala como ratas alimentadas con una dieta deficiente en vitamina E, desarrollan un número menor de larvas de T. spiralis que las alimentadas con una dieta no deficiente. Esto, nos sirvió de base para estudiar la influencia de la deficiencia en vitamina E, sobre el número de larvas de T. spiralis que se desarrollan en ratones albinos, dado, además, que la experiencia de

Zaiman resulta poco indicativa, pues, debido a muerte accidental de los animales en fecha anterior al plazo previsto, tan sólo figuran en el análisis de resultados 3 ratas control y 9 pertenecientes al grupo de experimentación.

Utilizamos en nuestra experiencia ratones hembras, dado que en ellas los efectos de la deficiencia son mas marcados que en los machos, y precisan menos tiempo para producirse, (Eeck 1950).

Infestamos con un número elevado de larvas, (300), el grupo deficiente y el control, (que ingería igual dieta suplementada con Vitamina E), tras 12 días de habituamiento a la dieta, y cuando ya los síntomas de la deficiencia habían comenzado a hacerse patentes.

A los 43 días de ingerir la dieta, es decir 31 días postinfestación, ambos grupos de ratones se sacrificaron realizandose el recuento del número de larvas de triquina musculares. El número obtenido en ambos grupos, (Cuadro nº XI), $\bar{x}=27.454$, para el grupo control, y $\bar{x}=26.483$ para el grupo deficiente, no difiere sin embargo, y el Análisis de Varianza confirmó que no existe diferencia entre las dos series de valores, (Tabla nºXII).

Así, la alimentación del ratón albino con una dieta deficiente en vitamina E, durante el periodo de tiempo por nosotros empleado, (12 días antes de la infestación-31 días postinfestación), parece no tener influencia sobre el número de larvas de T. spiralis que llegan a establecerse en los músculos, tras infestación experimental con una dosis de 300 larvas.

5-2-2)-DEFICIENCIA EN ACIDO PANTOTENICO

Utilizamos para nuestro estudio, dos lotes de ratones hembras. En uno de ellos, establecimos previamente la deficiencia por alimentación con una dieta carente durante 17 días antes de la infestación, tiempo suficiente para que los animales presentaran los síntomas mas característicos de una apantotenis

por lo que no fué necesario agravar la situación carencial por adición de antagonistas a la dieta.

La situación de los ratones deficientes, se fué empeorando durante el curso de la experiencia, llegando a morir 5 de ellos durante la fase intestinal del parasitismo, y probablemente a causa de las fuertes hemorragias intestinales que se evidenciaron en la autopsia.

A los 30 días de la infestación, se sacrificaron los ratones de los dos grupos, realizándose el recuento del número de larvas musculares, así como del número de adultos intestinales que permanecían en esa fecha.

Los valores medios obtenidos para el número de larvas musculares en cada lote de animales, ($\bar{x}=1.852$, para el grupo deficiente, y $\bar{x}=2.253$ para el grupo control), no difieren grandemente entre sí, y el Análisis de Varianza de muestra que entre ambas series de valores, (Cuadro nºXII), no existe diferencia significativa, (Tabla nºXIII).

En los animales del grupo deficiente, se observó, con respecto a los del grupo control, una mayor permanencia de los adultos de T. spiralis. Normalmente, en nuestra cepa de ratones, no suelen encontrarse adultos a partir de los 17-20 días de la infestación, sin embargo, en los animales deficientes, el número de adultos era aún elevado a los 31 días postinfestación, recogiendo-se en 21 de ellos, (Cuadro nº XIII), con un valor medio de 21 triquinas adultas por animal, mientras que sólo se hallaron en dos de los ratones control. Este hecho, es decir la permanencia de los adultos, es probablemente debido a los trastornos intestinales producidos por la deficiencia en ácido pantoténico. Si aceptamos la opinión general que señala una reacción inmunológica local como responsable de la eliminación de los adultos intestinales, esta experiencia sugiere que la carencia o deficiencia en ácido pantoténico disminuye en algún modo esa reacción de defensa del intestino.

5-3)-INFLUENCIA DE LAS HORMONAS GONADALES

Dado el gran número de experiencias que indican la existencia de una mayor susceptibilidad de los animales machos a la infestación experimental con diversos parásitos, consideramos de interés realizar una experiencia con ratones adultos de ambos sexos, (Exp. nº4).

Los resultados obtenidos, $\bar{x}=7.981$ larvas musculares para las hembras y $\bar{x}=12.767$ para los machos, (Cuadro nºXIV), son de por sí indicativos. Como confirma el Análisis de Varianza, (Tabla nºXIV), la diferencia entre los dos grupos es altamente significativa. Los ratones machos de nuestra cepa albergan, para la misma dosis infestante, un número de larvas de triquina mucho mayor que las hembras. Este resultado, coincide con el obtenido por Marikau y Hamilton, (1972), utilizando ratas como hospedador; ellos, con 6 ratas machos y 6 hembras, infestadas con una dosis de 300 larvas, obtienen respectivamente $\bar{x}=156.000$ y $\bar{x}=49.300$. Es evidente pues, la existencia de una mayor susceptibilidad al parasitismo por T. spiralis en los ratones machos. Esta diferencia entre machos y hembras, puede estar ligada a múltiples factores, algunos de los cuales puede ser la presencia de las hormonas gonadales.

Para evidenciar este supuesto, se montó una experiencia, (Exp. nº5), en la que se estudia el número de larvas musculares en ratones machos normales y en ratones machos castrados. Los resultados, (Cuadro nºXV), demostraron la importancia de las hormonas sexuales en esta diferente susceptibilidad. El número de triquinas en los animales machos castrados, ($\bar{x}=8.215$), fué similar al obtenido en la experiencia anterior para las hembras, ($\bar{x}=7.981$), y muy inferior al obtenido para el grupo de machos control, ($\bar{x}=13.548$). La orquidectomía, parece haber disminuido la susceptibilidad del ratón macho a la infestación con T. spiralis, como lo demuestra la aplicación del Análisis de Varianza a las dos series de valores obtenidos, (Tabla nºXV).

Este resultado, coincide con el obtenido por otros autores en distintos sistemas parásito-hospedador :Campbell y Melcher, (1940) con Cysticercus crassicolis y ratas ;Addis, (1946) con Hymenolepis diminuta y ratas ;Beck y Chandler, (1950) con H. diminuta y ratas; Berg, (1957) con Schistosoma mansoni y ratones ;Dobson, (1961b) con Nematospiroides dubius y ratas ;Solomon, (1963) con Nippostrongylus brasiliensis y hamsters ;Paik, (1966) con Ancylostoma caninum y ratas ;Waddell y col., (1971) con N. brasiliensis y ratas; Szidat, (1971), con Echinococcus granulosus y perros etc. Otros autores, no encuentran efecto por la castración, así Hosier y Dunning, (1975) con N. dubius y ratones, y Katz, (1963), con Strongyloides ratti y ratas sexualmente inmaduras.

En nuestras experiencias, la administración de propionato de testosterona a la dosis de 25^μgr./gr. de peso a ratones machos castrados, produjo un aumento altamente significativo, (Cuadro nºXVI, Tabla NºXVI), del número de larvas musculares de triquina, en comparación con machos castrados controles, (\bar{x} =15. 419, para ratones castrados tratados con propionato de testosterona; \bar{x} =7. 955 para ratones castrados sin tratamiento).

Este hecho, parece señalar que la mayor susceptibilidad masculina al parasitismo por T. spiralis, puede ser debida a la influencia de la testosterona, bien actuando directamente sobre el parásito, sobre el hospedador, o mas probablemente a acciones ejercidas tanto sobre el parásito como sobre el hospedador. Así, la administración de propionato de testosterona a los ratones castrados, suple los efectos de la castración, elevando el número de larvas por encima del obtenido en animales castrados sin tratamiento.

Similares aumentos de la susceptibilidad en animales castrados por la administración de testosterona, al observado con T. spiralis, han sido señalados por otros autores con distintos parásitos. Así en ratas con Cysticercus crassicolis, (Campbell, 1939); en ratas con Hymenolepis diminuta, (Addis, 1946); (Beck, 1952); en conejos con Strongyloides papillosus, donde ejerce un efecto positivo independientemente de la dosis, (Chomiz, 1974); en ratones con Nematospirroides dubius, (Dobson, 1966b); en ratas con Hymenolepis diminuta, donde restaura la producción de huevos a la normalidad después de la disminución que se produce con la castración, (Beck y Chantler, 1950, Beck, 1950); en ratones con H. diminuta, restaurando el desarrollo del parásito al nivel del grupo no castrado, (Bailenger y Larcher-Fourrier, 1973); en ratas con N. dubius, y en ratones con N. dubius, donde la administración de testosterona a machos castrados, favorece el desarrollo del gusano macho más que de la hembra, (Dobson, 1961 a, b).

Así, parece sentado que la testosterona devuelve a los machos castrados su susceptibilidad al parasitismo, en nuestro caso por T. spiralis. Dado que esta acción, directa o indirecta, puede ejercerse tanto sobre la fase intestinal como muscular del parasitismo, nos interesaba conocer, si en los animales castrados, el número de adultos de triquina que llegaban a desarrollarse a partir de un determinado número de larvas infectantes era menor, y ello era la causa del desarrollo de un menor número de larvas musculares, (como sucede con ratas infectadas con N. brasiliensis, donde la diferencia entre el número de parásitos en machos y hembras es debida a una temprana expulsión de los gusanos en la rata hembra, Murray y col 1971).

Para comprobar este supuesto, planeamos una experiencia en la que estudiamos el número y sexo de los adultos de T. spiralis hallados en el intestino delgado de ratones machos normales y castrados a los 7 y 16 días postinfectación. Los valores obtenidos, (Cuadros nºXVII y XVIII), ($\bar{x}=53.7\%$ de los adultos para los machos castrados y $\bar{x}=63.1\%$ para los machos normales), no difieren al igual que ocurre con los porcentajes relativos de machos y hembras a los 7 días postinfectación, (Tabla nºXVII). A los 16 días postinfectación, los valores, ($\bar{x}=24\%$ para los castrados, $\bar{x}=23.3\%$ para los normales), son también muy próximos, de manera que no existe diferencia estadística entre ellos, (Tabla nºXVII).

Así, la disminución en el número de larvas musculares, resultado de la castración de los ratones machos, no parece deberse a una eliminación temprana de los adultos, sino a cualquier otra alteración cuya naturaleza es difícil precisar, y que da lugar a una menor capacidad infectante. Esta disminución de la capacidad infectante, pudiera ser en cierto modo permanente, es decir podría pensarse que las larvas obtenidas de un ratón castrado fueran menos infectivas que las obtenidas de un ratón normal.

Este último supuesto, nos llevó a planear una experiencia, (Cuadro nº XIX), donde se infectan ratones normales y castrados, con larvas procedentes de ratones castrados, y donde esperábamos obtener un número mayor de larvas en los animales normales que en los castrados, como sería lógico pensar tras las experiencias precedentes.

Sin embargo, el número de larvas musculares obtenido fue similar en ambos grupos, ($\bar{x}=7.874$, para los ratones castrados; $\bar{x}=4.695$ para los normales), demostrando el Análisis de Varianza, (Tabla nºXVIII)

que no existe diferencia entre ambas series de valores. Este hecho, parece sugerir , que las larvas de triquina procedentes de ratones castrados, son igualmente poco infectivas para ratones castrados y para ratones normales, de modo que la pérdida de infectividad permanece aunque se infecte con ellas un hospedador no castrado.

En la siguiente experiencia, (Cuadro nºXX), comparamos el número de larvas musculares obtenido en ratones normales infectados con larvas procedentes de ratones normales , y en ratones normales infectados con larvas que han pasado por dos generaciones de ratones machos castrados. Mientras que en los ratones infectados con larvas de normales, se obtiene un número de larvas similar al obtenido en todos aquellos casos en que hemos infectado ratones de igual peso medio, ($\bar{x}=11.355$), en los infectados con larvas de ratones castrados, el número de larvas musculares es muy inferior, ($\bar{x}=7.963$), próximo al obtenido en otros casos para los ratones castrados. El Análisis de Varianza, (Tabla nºXIX), demuestra que la diferencia entre ambas series de valores es altamente significativa, en el sentido de una menor capacidad infectante en las larvas que proceden de animales castrados.

Este resultado, unido al obtenido en la experiencia anterior, parece indicar que el paso por un animal castrado, altera de algún modo la capacidad infectante de las larvas de T. spiralis , capacidad esta que no se restaura al volver a un animal normal.

Habiendo estudiado ya el posible papel de la testosterona en el sistema ratón-macho T. spiralis, realizamos una experiencia para tratar de evidenciar la influencia de la administración de estrógenos en este mismo sistema. Utilizamos un estrógeno sintético, el diacetato de di-

hidroestilbestrol ; la dosis elegida fué la de 6µgr./gr. de peso; la administración a intervalos de 5 días durante toda la experiencia, y desde 25 días antes de la infectación ; dosis mas altas o administraciones mas frecuentes , demostraron ser perjudiciales para los ratones, probablemente por la retención excesiva de agua que fué evidenciada en la autopsia, principalmente en los órganos genito-uritarios.

El diacetato de dihidroestilbestrol, demostró ser capaz de disminuir, en estas condiciones, el número de larvas de T. spiralis que se establecían en los músculos a los 28 días postinfectación. El número de larvas obtenido en estas fechas para los animales tratados, (\bar{x} =9.308) fué muy inferior al de los animales control, (\bar{x} =16.421), demostrando el Análisis de Varianza, (Tabla nºXX), una diferencia altamente significativa entre ambas series de valores, con un intervalo de la diferencia entre las medias que oscula entre 11.106 y 3.119. Su acción, parece ser pues contraria a la del propionato de testosterona, dado que mientras este incrementa el número de larvas obtenido, el tratamiento con el estrógeno disminuye este en machos normales de manera muy notable. Este resultado, está de acuerdo con el obtenido por Mankau y Hamilton, (1972), en ratas con T. spiralis, donde la administración de estilbestrol, disminuye la susceptibilidad masculina.

Así, parece que la mayor susceptibilidad de los ratones machos a la infectación con T. spiralis está relacionada con los niveles de testosterona ; la castración disminuye la susceptibilidad, la testosterona la vuelve al valor normal, y la administración de diacetato de dihidroestilbestrol tiene un efecto similar a la castración.

En ratones hembras, la castración demostró disminuir igual-

mente la susceptibilidad a la infección con T. spiralis, (Cuadro nºXXII), de modo que en las hembras castradas 30 días antes de la infección, el número medio de larvas musculares fué 694, muy inferior al de las hembras no castradas, ($\bar{x}=6.789$), y resultando 4 de los animales castrados no infectados; la gran diferencia entre las dos series de valores, hace innecesario el análisis estadístico para afirmar que la diferencia entre los dos grupos es altamente significativa. Parece ocurrir, que aunque los estrógenos, (el diacetato de dihidroestilbestrol), disminuyen la susceptibilidad masculina, en hembras la castración las hace aún menos susceptibles a la infección.

No hemos hallado en la bibliografía antecedentes de los efectos producidos en los ratones por la ovariectomía simple en la infección con T. spiralis, pues aunque Mankau y Hamilton, (1972), utilizan hembras castradas en sus experiencias, combinan este factor con la administración de testosterona, con lo que obtienen un número de larvas similar al de los machos intactos.

En otros parásitos, distintos de T. spiralis, no parece observarse una respuesta común, como ocurría en el caso de la orquidectomía, sino que los resultados obtenidos difieren. Así, Bailenger y col., (1972b), no encuentran efecto en ratonas parasitadas con Hymenolepis nana, ni tampoco Hosier y Durning, (1975) en ratonas parasitadas con Nematospiroides dubius y Solomon, (1963) en hamsters con Nippostrongylus brasiliensis. En otros casos en cambio, la ovariectomía actúa intensificando la infección, como sucede en ratas con Cysticercus crassicolis, (Campbell y Melcher, 1949), en ratonas con Ampliscaecum robertsi, (Dobson, 1966a), y en pollos infectados con Ascariidia galli, (Todd y Crowds-Ky, 1952).

La siguiente experiencia, (Exp. nº12), fué realizada con hembras jóvenes, peso medio 17 gr., pues nos interesaba fueran inmaduras para ver el efecto de la administración del estrógeno. Ello es quizás la causa del alto número de larvas musculares, (Cuadro nºXXIII), obtenido tanto en el grupo tratado como en el control. La administración a estas hembras de diacetato de dihidroestilbestrol, a la dosis de 6 μ gr./gr. de peso, cada 3 días a partir del día de la infectación, disminuyó de manera notable el número de larvas instaladas en los músculos a los 28 días postinfectación, (\bar{x} =28.847 para el grupo tratado; \bar{x} =41.070 para el grupo control), demostrando el Análisis de Varianza, (Tabla nºXXI), que la diferencia entre las dos series de valores es altamente significativa, siendo el intervalo de confianza entre las medias de 19.878 y 4.568.

Este estrógeno, actúa pues disminuyendo la susceptibilidad tanto en ratones hembras como en machos, aunque probablemente su acción en hembras se deba a la madurez sexual que en ellas produce, y los cambios fisiológicos producidos por su administración en las hembras sean del todo diferente a los producidos en machos.

Establecida ya la influencia en hembras de la administración del diacetato de dihidroestilbestrol, nos faltaba determinar el efecto que sobre el número de larvas de T. spiralis, pudiera tener en ellas el propionato de testosterona, pues este actúa en hembras como un antiestrógeno.

La administración a hembras sexualmente maduras de propionato de testosterona, (Exp. nº13), a la dosis de 25 μ gr./gr. de peso., cada 4 días a partir del día de la infectación y durante toda la experiencia, no ejerció efecto alguno, de modo que entre las dos series de valores obtenidos, (Cuadro nºXXIV), no existe diferencia estadísticamente, e incluso parece observarse un menor número de larvas en los animales tratados,

(\bar{x} =9.008 en el grupo control; \bar{x} =7.861 en el grupo tratado), aunque no es confirmada por el Análisis de Varianza, (Tabla nºXXII).

En una segunda experiencia, (nº14), examinamos igualmente la acción del propionato de testosterona en hembras adultas, pero comenzando el tratamiento 20 días antes de la infección. De este modo, es decir con un tratamiento previo de los animales, se produjo un aumento del número de larvas musculares en las hembras tratadas con propionato de testosterona, (\bar{x} =14.199), que fué estadísticamente significativo con respecto al valor obtenido para las hembras del grupo control, (\bar{x} =11.040). Así, parece ser que la acción del propionato de testosterona en hembras, precisa un periodo de administración del producto anterior a la infección, y en este caso actúa también, (como en los ratones machos), produciendo un aumento del número de larvas musculares, con respecto a ratonas control.

Como resumen de esta serie de experiencias, parece deducirse, que los ratones machos son más susceptibles a la infección experimental con T. spiralis que las hembras; la castración en ambos sexos disminuye de modo notable la susceptibilidad a la infección; la administración de propionato de testosterona, reataura la susceptibilidad de los ratones machos castrados al parasitismo, y aumenta esta en hembras normales, (siempre que vaya precedida de un tratamiento previo a la infección), y el diacetato de dihidroestibestrol, tanto en machos como en hembras, disminuye la susceptibilidad al parasitismo, en las dosis e intervalos de tiempo por nosotros utilizados.

La modificación producida por la castración en los ratones machos, que hace que el número de larvas musculares disminuya, no se refleja en la fase intestinal del parasitismo. Parece además, que esta disminución de la capacidad infectante de las larvas de T. spiralis que se

desarrollan en un ratón castrado, es de algún modo permanente, al menos en dos generaciones, de modo que al infectar con ellas animales normales, el número de larvas obtenido, sigue siendo muy próximo al de los ratones castrados.

Estos resultados, coinciden en parte con los obtenidos por otros autores en otros sistemas parásito-hospedador. La administración de testosterona en todos los casos produce una mayor susceptibilidad. La acción de los estrógenos es sin embargo más discutida, aunque en el único precedente que tenemos sobre T. spiralis, (Mankau y Hamilton, 1972), el estilbestrol, actúa disminuyendo en ratas machos tratadas, el número de larvas musculares obtenido con respecto a ratas control, resultado este que coincide con el nuestro.

6)-CONCLUSIONES

- 1ª) - La cepa de Trichinella spiralis LASO-59-LH, muestra ser más infectiva para el ratón albino de nuestro criadero que la cepa POLE-74-LH. Esta última, no solo produce una menor infectación, sino también una mayor variabilidad individual. El primer hecho, viene también apoyado por las variaciones de peso de los ratones durante las experiencias comparativas.
- 2ª) - La alimentación del ratón albino hembra con una dieta deficiente en vitamina E, no altera, en nuestras condiciones experimentales, el número de larvas de T. spiralis que se establecen en los músculos, comparadas con las que se establecen en los ratones testigos.
- 3ª) - La alimentación del ratón albino hembra con una dieta deficiente en ácido pantoténico, no altera, en nuestras condiciones experimentales, el número de larvas de T. spiralis que llegan a instalarse en los músculos, comparadas con las que se establecen en los ratones testigos.
- 4ª) - En casi la totalidad de los ratones alimentados con una dieta deficiente en ácido pantoténico, los adultos de T. spiralis permanecen en el intestino delgado hasta 30 días tras la infectación, mientras que esto no ocurre en los ratones alimentados con una dieta no deficiente. Esto, unido a lo expresado en la conclusión nº 3, sugiere que la mayor permanencia de los adultos en el intestino no influye el número total de larvas emitidas por las hembras de T. spiralis.

- 5a)-Los ratones machos son mas susceptibles a la infectación con T. spiralis que las hembras.
- 6a)-Los ratones machos castrados, son menos susceptibles a la infectación con T. spiralis que los ratones machos intactos. El grado de infección alcanzado por los machos castrados, es aproximadamente igual al de las hembras normales.
- 7a)-La administración de propionato de testosterona a ratones machos castrados, restaura su susceptibilidad a la infectación con T. spiralis. Esto sugiere, que la acción que facilita la infectación triquinosa en ratones machos, se debe primordialmente a la acción de la hormona misma, y no a otros efectos secundarios que la castración pueda producir.
- 8a)-El número y sexo de los adultos de T. spiralis recogidos del intestino delgado de ratones machos normales y castrados a los 7 y 16 días postinfectación, no difiere significativamente. Lo que interpretamos en el sentido de que el efecto de la hormona se realiza a nivel de las fases larvarias de triquina.
- 9a)-Cuando se utilizan como inóculo larvas de triquina procedentes de un ratón castrado, el grado de infectación muscular alcanzado no difiere entre machos normales y castrados, siendo significativamente igual en ambos al grado de infectación en ratones machos castrados que se infectan con inóculo procedente de ratones normales. Por

lo que deducimos, que el paso de las larvas de T. spiralis por un animal castrado disminuye de algun modo su capacidad infectante, no restaurandose esta al infectar con ellas un animal normal.

- 10^a)—La administración a ratones machos normales de diacetato de dihidroestilbestrol, disminuye su susceptibilidad a la infección con T. spiralis, con respecto a ratones testigos.
- 11^a)—Los ratones hembras castradas, son menos susceptibles a la infección con T. spiralis que los ratones hembras normales. La administración a ratones hembras jóvenes de diacetato de dihidroestilbestrol, disminuye su susceptibilidad a la infección, con respecto a ratones hembras testigos. De donde puede, en principio, deducirse que la presencia o ausencia de estrógenos, (diacetato de dihidroestilbestrol), no tiene una acción unidireccional en la infectabilidad por T. spiralis, pudiendo ser estos resultados contradictorios debido a otros efectos indirectos de la castración en las hembras.
- 12^a)—La administración a ratones hembras de propionato de testosterona, aumenta su susceptibilidad a la infección con T. spiralis, con respecto a ratones hembras testigos. Este aumento, solo sucede cuando el tratamiento se inicia algun tiempo antes de la infección.

BIBLIOGRAFIA

- 1-ACKERT, J. E. ; FISHER, M. L. y ZIMMERMAN, N. B. -1927
Resistance of chickens to parasitism affected by the fat-soluble vitamin A.
J. Parasitol. 13 :219-220
(Citado por von Brand, 1973)
- 2-ACKERT, J. E. y SPINDLER, L. A. -1929
Vitamin D and resistance of chickens to parasitism.
Amer. J. Hyg. 9 :292-307
(Citado por von Brand, 1973)
- 3-ACKERT, J. E. ; Mc. ILVAINE, M. F. y CRAWFORD, N. Z. -1931
Resistance of chickens to parasitism affected by vitamin A.
Amer. J. Hyg. 13 :320-334
(Citado por Mc. Coy, 1934)
- 4-ACKERT, J. E. y NOLF, L. O. -1931
Resistance of chickens to parasitism affected by vitamin B.
Amer. J. Hyg. 13 :337-344
(Citado por von Brand, 1973)
- 5-ACKERT, J. E. -1931
Resistance of chickens to parasitism affected by vitamins A and B.
Arch. Zool. Ital. 16 :1369-1379
(Citado por von Brand, 1973)
- 6-ACKERT, J. E. y WITLOCK, J. H. -1935
Studies on Ascarid nutrition.
J. Parasitol. 21 :428

- 7-ACKERT, J. E. -1939
 Factors in the resistance of chickens to parasitic worms.
 World's Poultry Congr. Exposition. (Proc.) 7th :265-267
 (Citado por von Brand, 1973)
- 8-ACKERT; J. E. WITLCK, J. H. y FREEMAN, E. A. -1940
 The food of the fowl nematode Ascaridia lineata, (Schneider).
 J. Parasitol. 26 :17-32
- 9-ACKERT, J. E. y DEWHIRST, L. W. -1950
 Resistance of fowls to parasitism affected by female sex hormones.
 J. Parasitol. 36:suppl. 16
- 10-ADDIS, C. J. y CHANDLER, A. C. -1944
 Studies on the vitamin requirements of tapeworms.
 J. Parasitol. 30:229-236
- 11-ADDIS, C. J. Jr. y CHANDLER, A. C. -1946
 Further studies on the vitamin requirements of tapeworms.
 J. Parasitol. 32:581-584
- 12-ADDIS, C. J. -1946
 Experiments on the relation between sex hormones and the growth
 of the tapeworm Hymenolepis diminuta in rats.
 J. Parasitol. 32:574-580
- 13-BAILENGER, J. ;ROGER, G. yPAUTRIZEL, R. -1964
 Etude de l'immunité des rongeurs a l'égard d'Hymenolepis nana.
 III-Facteurs spécifiques et aspécifiques.
 Annales de Parasitologie. 39:33-52
- 14-BAILENGER, J. yLARCHER-FOURRIER, M. F. -1972
 Influence of androgen hormones on the parasitism of male mice
 by Hymenolepis nana . I-Effects of castration.
 Annales de Parasitologie Humaine et Comparée. 47:773-777

- 15-BAILENGER, J. ;FARAGGI, G. ;LARCHER-FOURRIER, M. F. y CERBELLE, F. -1972 a
 Influence of age and sex on the parasitism of mice by Hymenolepis nana.
 Annales de Parasitologie Humaine et Comparee. 47:767-772
- 16-BAILENGER, J. CERBELLE, F. ;FARAGGI, G. yLARCHER-FOURRIER, M. F. -1972 b
 Influence of ovariectomy on the parasitism of mice by Hymenolepis nana .
 Annales de Parasitologie Humaine et Comparee. 47:779-782
- 17-BAILENGER, J. y LARCHER-FOURRIER, M. F. -1973
 Influence of androgen hormones on the parasitism of male mice by Hymenolepis diminuta . II-Action of testosterone.
 Annales de Parasitologie Humaine et Comparee. 48:661-666
- 18-BAWDEN, R. J. -1969
 The establishment and survival of Oesophagostomum columbianum in male and female sheep given high and low protein diets.
 Aust. J. Agric. Res. 20:1151-1159
 De Helminth. Abstr. , 1970, 39:3. 708
- 19-BECK, J. W. y CHANDLER, A. C. -1950
 Experiments on the nutrition and host relations of Hymenolepis diminuta in White rats, with special reference to vitamins and hormones.
 J. Parasitol. 36 :suppl. 44.

20-BECK, J. W. -1950

The effects of various factors on the tapeworm Hymenolepis diminuta, as indicated by measurements of egg production in single worm infection.

Rice. Inst. Doctoral Thesis, 58pp.

(Citado por Chandler y col. , 1950)

21-BECK, J. W. -1952 a

Effect of diet upon single established Hymenolepis diminuta in rats.

Exp. Parasitol. 1 :46-59

22-BECK, J. W. -1952 b

Effect of gonadectomy and gonadal hormones on singly established Hymenolepis diminuta in rats.

Exp. Parasitol. 1 :109-117

23-BEHNKE, J. M. -1975

Aspicularis tetraptera in wild Mus musculus. The prevalence of infection in male and female mice.

J. Helminth. 49 :89-90

24-BERG, E. -1953

Effects of castration in male mice on Schistosoma mansoni.

Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 83-85.

(Citado por Frayha y col. , 1971)

25-BERG, E. -1957

Effects of castration in male mice on Schistosoma mansoni.

Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. , 51 :353-358

(Citado por Frayha y col. , 1971)

- 26-BERG, E. y BECK, R. D. -1968
 Posible role of a sex factor in rabbit host naturally infected with
Taenia pisiformis cysticerci.
 J. Parasitol. 54 :1252-1253
- 27-BESSONOV, A. S. ;PERIKOVA, R. A. ;USPENSKY, A. V. yBELOZEROV,
 S.N. -1974
 On the self-dependent position of Trichinella species
 In Third International Congres of Parasitology, Proceedings, Vol. 2
 FACTA. Publication, (1974) :662-664
- 28-BOEV, S. N. ;SHAIKENOV, B. y TAZIEVA, Z. Ch. -1975
 Sibling species of Trichinella in Kazakhstan and Middle Asia.
 Second European Multicolloquiy of Parasitologiy. Trogir, 1975,
 Summaries, 80-81.
- 29-BRIGGS, M. H. -1972
 Metabolism of steroid hormones by schistosomes.
 Biochimica et Biophysica Acta. (I), (1972), 280 :481-485
 De Helminth. Abstr. , 1974. 43 :1. 718
- 30-BRITOV, V. A. y SMIRNOVA, M. I. -1966
 About Trichinella spiralis strains
 Wiadom. Parazytol. 12 :527-530
- 31-BRITOV, V. A. -1971
 On the characteristic of varieties of Trichinella.
 Trudy Dal'nevostochnogo Nauchno-Issledovatel'skogo. Veterinar-
 nogo Instituta 5 :147-150. De Helminth. Abstr. 1974, 43 : 11
- 32-BRITOV, V. A. -1973
 The reproduction of different varieties of Trichinella.
 Omsk. USSR;Sibirskii Nauchno-Issledovatel'skii. Veterinarnyi
 Institut, (1973) :173-174, (Ru.)
 De Helminth. Abstr. , 1975, 44 :1. 459

33-BRITOV, V. A. y BOEV, S. N. -1973

Trichinellosis agents and their circulation character. (Abstr.)
International Congress on Tropical Medicine and Malaria, 9th ,
1973-Vol. I :152-153
De Helminth. Abstr. , 1974, 43 :2365

34-BRITOV, V. A. -1974

Intraspecific variations of Trichinella. (Abstr.).
In Third International Congress of Parasitology. Proceedings, Vol. 2
FACTA Publication, (1974)-660-661

35-BRITOV, V. A. -1975

Trichinella spiralis and T. nativa are perfectly separate species.
Second European Multicolloquy of Parasitology, Trogir, 1975
Summaries, 81-82.

36-BUSSOLATI, C. ; CARNERI, I. ; de CASTELLINO, S. MARINONI, V. y
SPERZANI, G. L. -1967

Treatment of experimental and clinical schistosomiasis with hormonal
inhibitors of ovulation.
Amer. J. Trop. Med. Hyg. , 16 :497-499
De Helminth. Abstr. , 1968, 37 :388

37-CAMPBELL, D. H. -1939

The effects of sex hormones on the normal resistance of rats to
Cysticercus crassicollis.
Science, 89 :415-416
(Citado por Frayha y col. , 1971)

- 38-CAMBELL, D. H. y MELCHER, L. R. -1940
Relationship of sex factors to resistance against Cysticercus crassicollis in rats.
J. Infect. Dis. 66 :184-188
(Citado por Frayha y col., 1971)
- 39-CARNERI, I. de; BUSSOLATI, C. y CASTELLINO, S. -1967
Tentative di inhibire con anticoncezionali l'ovoposizione di Schistosoma mansoni per la terapia della schistosomiasi del topo e dell'uomo. (Abstr.)
Parassitologia, 9 :125
- 40-CHANDLER, A. C. -1943
Studies on the nutrition of tapeworms.
Amer. J. Hyg. 37 :121-130
(Citado por Chandler y col., 1950)
- 41-CHANDLER, A. C. ; READ, C. P. y NICHOLAS, H. O. -1950
Observations on certain phase of nutrition and host-parasite relations of Hymenolepis diminuta in White rats.
J. Parasitol. 36 :523-535
- 42-CHOMIZ, L. -1967
Pathological changes of blood depending on sex and age of rabbits experimentally infected with a sheep strain of Strongyloides papillosus.
Acta Parasit. Pol., 14 :215-263
- 43-CHOMIZ, L. -1974
The effect of gonadectomy and sex hormones on the course of experimental strongyloidosis, (sheep strain), in rabbits.
In Third International Congress of Parasitology. Proceedings, Vol. 2
FACTA Publication, (1974) :705.

- 44-COMBESCOT, C. ;BARRABES, A. Y DEMARET, J. -1970
 Rôle de l'œstradiol dans la parasitose expérimentale à Schistosoma mansonii chez le hamster doré femelle *Cricetus auratus*.
 C. I. Soc. Biol. , 164 :1623
- 45-COMBESCOT, C. y N'GORE-TRAORE, F. -1970
 Interrelation hôte-parasite dans la bilharziose expérimentale a Schistosoma mansonii chez le hamsters doré *Cricetus auratus*. Action des estrogènes.
 2^e Congrès International de Parasitologie, Washington, D. C. USA, 1970.
 (Citado por Combescot y col. , 1974)
- 46-COMBESCOT, C. REYNONARD, F. y DEMARET, J. -1971
 Rôle protecteur des hormones sexuelles dans la parasitose expérimentale a Schistosoma mansonii du hamster doré femelle.
 Comptes Rendus 1^{er} Multicolloque Européen de Parasitologie, Rennes, 1971 :101.
- 47-COMBESCOT, C. ;BARRABES, A. ;REYNONARD, F. y DEMARET, J. -1972
 The protective role of sex hormones in experiemntal infection of the female golden hamsters with Schistosoma mansonii.
 Comptes -Rendus 1^{er} Multicolloque Européen de Parasitologie, Rennes, 1971 :102-104.
- 48-COMBESCOT, C. ;BARRABES, A. y REINONARD, F. -1974
 Protective effect of oestradiol during an experiemntal infection with Schistosoma mansonii in castrated female golden hamster. Importance of cutaneous barrier.
 Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 49:185-189

- 49-CURTIS, M. R. ;DURNING, W. F. y BULLOCK, F. D. -1933
Genetic factors in relation to the etiology of malignant tumors.
Am. J. Cancer, 17 :894-923
(Citado por Frayha y col. , 1971)
- 50-DOBSON, C. -1961 a
Certain aspects of the host-parasite relationship of Nematospiroides dubius, (Baylis). I-Resistance of male and female mice to experimental infections.
Parasitology, 51 :173-179
- 51-DOBSON, C. -1961- b
Certain aspects of the host-parasite relationship of Nematospiroides dubius, (Baylis). II-The effect of sex on experimental infections in the rat, (an abnormal host).
Parasitology, 51 :499-510
- 52-DOBSON, C. -1965
The effects of sex and age on the host-parasite relationship of the third-stage larvae of Ampliscaecum robertsi, Sprent and Mines, 1960 in the laboratory rats.
Parasitology, 55 :303-311
- 53-DOBSON, C. -1966 a
The age and sex of the host affecting the host parasite relationship of the third-stage larva of Ampliscaecum robertsi, Sprent and Mines, 1960, in the laboratory mouse.
Parasitology, 56 :399-406

54-DOBSON, C. -1966 b

Certain aspects of the host-parasite relationship of Nematospiroides dubius, (Baylis). VI-The effects of the age, sex and species of the host on worm growth.

Parasitology, 56 :407-416

55-EHRENFORD, F. A. -1957

Canine ascariasis as a potential source of visceral larva migrans.

Am. J. Trop. Med. Hyg. , 6 :166-170

(Citado por Oshima, 1961)

56-ERSHOFF, B. H. ;SLATER, R. B. y GAINES, J. G. -1953

J. Nutr. 50 :299

(Citado por Sós y Szelényi, 1974)

57-ESCH, G. W. -1967

Some effects of cortisone and sex on the biology of coenuriasis in laboratory mouse and jack rabbits.

Parasitology, 57:175-179

58-FORRESTER, A. T. ;NELSON, G. S. y SANDER, G. -1961

The first record of an outbreak of trichinosis in Africa South of the Sahara.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. , 55 :503-513

De Helminth. Abstr. , 1962, 31 :1. 092

59-FRAYHA, G. J. ;LAWLOR, L. W. y DAJANI, R. M. -1971

Echinococcus granulosus in albino mice :Effect of host sex and sex hormones on the growth of hydatidic cist.

Exp. Parasitol. , 29 :255-262

60-GARKAVI, B. L. -1972

Species of Trichinella from wild carnivores.

Veterinariya, Moscow, 40 :90-91 . De Helminth. Abstr. , 1973, 42:1520

61-GARKAVI, B. L. -1973

Trichinella pseudospiralis , infection in pigs and cats.

Veterinariya, Moscow, 41 :64-65 . De Helminth. Abstr. , 1974, 43:1973

62-GARKAVI, B. L. -1974

Biological specialities of Trichinella pseudospiralis.

In Third International Congress of Parasitology. Proceedings, Vol. 2

FACTA Publication, (1974) :661-662

63-GIERASIMOV, M. y CZERPAK, R. -1969

Blood serum in experimental trichinellosis of white mice treated with vitamin A and aurothioglucose.

Proceedings of the Second International Conference of Trichinellosis.

Wroclaw, 1969. Wiadom. Parazytol. , 15 :696-697

64-GOULD, S. E. -1970

Trichinosis in man and animals.

Charles, C. Thomas Publisher. Springfield. Illinois. USA.

65-GRAY, J. S. -1972

The effect of host age on the course of infection of Raillietina cesticiillus, (Molin 1958), in the fowl.

Parasitology, 65, 235-241

66-GRAY, J. S. -1973

The effect of gonadal steroides on the course of infection of

Raillietina cesticiillus in the fowl.

Parasitology, 67 :375-382

67-GREEN, E. L. , -1966

Biology of the laboratory mouse. 2nd. Edition

The Jackson Laboratory /Earl, L. Green, Ph. D. Editor.

68-GRETILLAT, S. -1971

Contribution to the study of the variations in adaptation and distribution of the West African strain of Trichinella spiralis.

Bulletin of the World Health Organization, 45 :520-524

De Helminth. Abstr. , 1973, 42 :2. 754

69-GUEVARA PCZO, D. y PIÑERO VENEGAS, F. -1972

Trichinellosis experimental en ratones. Comparación de técnicas de infestación.

Rev. Iber. Parasitol. , 32 :167-180

70-HAGER, A. -1941

Effects of dietary modifications of host rats on the tapeworm

Hymenolepis diminuta.

Iowa. St. Coll. J. Sci. 15 :127-153

(Citado por Platzer y Roberts, 1969)

71-HALE, O. M. ; STEWART, T. B. y JOHSON, C. J. -1970

Influence of a superimposed Strongyloides ransomi infection on performance of barrows on different planes of nutrition.

J. Parasitol. , 56 :233-237

72-HALEY, A. J. -1954

A difference in the susceptibility of male and female hamsters to infection with the rat nematode Nippostrongylus muris.

J. Parasitol. , 40 :42-49

- 73-HALEY, A. J. -1958
Sex difference in the resistance of the hamsters to infection with the rat nematode Nippostrongylus muris.
Exp. Parasitol. , 7 :338-348
- 74-HANSEN, M. F. ;PETRI, L. H. y ACKERT, J. E. -1954
Effects of Aureomycin and vitamin B12 used separately as feed supplements on resistance of chickens to Ascaridia galli, (Schrack).
Exp. Parasitol. , 3 :122-127
- 75-HENDRICKS, J. R. -1949
Comparing in mice the percentage development of Trichinella spiralis larvae obtained from a recent an from an old infection in rats.
J. Parasitol. , 35, (suppl) :84
- 76-HIRAISHI, T. -1927
Experimental ascariasis of young pigs with special reference to A avitaminosis.
Jap. Med. World. 7 :79-80
(Citado por von Brand, 1973)
- 77-HOAG, W. G. y DICKIE, M. M. -1966
Nutrition : en "Biology of the laboratory mouse", pgs 39-43.
The Jackson Laboratory/Earl, L. Green, Ph. D. , Editor.
- 78-HOSIER, W. D. y DURNING, J. P. -1975
Involvement of sex hormones in the resistance of ICR mice to Nematospiroides dubius.
J. Parasitol. , 63 :564-566

79-HUNNINEN, A. V. -1935

Studies on the life history and host parasite relations of Hymenolepis fraterna , (H. nana var fraterna, Stiles) in white mice.

Amer. J. Hyg. , 22 :414-423. (Citado por Sadun, 1952).

80-KATZ, F. F. -1963

Testosterone and estrogen treatments of gonadectomized rats in experiments on the host sex difference in Strongyloides ratti intestinal burdens.

J. Parasitol. , 49, Sec. 2:52

81-KERSHAW, W. E. ;WELLS, P. D. ;STOREY, D. M. ;BINGHAM, A. ;ENAYAT, M. S. ;RATNAPOLA, P. R. ;AL-BALDHAL, F. A. K. yEMSLIE, V. W. -1973

Vitamin A deficiency and filariasis in the cotton rats. II-Vitamin E deficiency and filariasis in the cotton rats.

Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. , 67 :31-32

De Helminth. Abstr. , 1973, 43 :1.288

82-KERSHAW, W. E. y STOREY, D. M. -1974

Nutrition and genetics in experimental filariasis.

In Third International Congress of Parasitology. Proceedings, Vol. 2

FACTA Publication, (1974) :630

83-KNIGHT, R. A. ;VEGORS, H. H. y LINDAHL, I. L. -1972

Comparative gastrointestinal nematode parasitism in naturally infected ewe and ram lambs.

J. Parasitol. , 58 :1216

84-KOZAR, Z. y KOZAR, M. -1963

The course of experimental trichinellosis in mice. Methods of infection and the influence of various invasive doses on the mortality and weight of the animals.

Wiadom. Parazitol. , 9:403-418

85-KOZAR, Z. y KOZAR, M. -1964

Comparative studies on the infectivity and pathogenicity of Trichinella spiralis strains from Poland and Africa.

Wiadom. Parazitol. , 10 :358-359

86-KOZAR, Z. y KOZAR, M. -1965

A comparison of the infectivity and pathogenicity of Trichinella spiralis strains from Poland and Kenya.

J. Helminth. , 39 :19-34

87-KOZAR, M. -1974

Age of Trichinella spiralis larvae and the course of experimental trichinellosis in mice.

Wiadom. Parazytol. , 20 :81 (pl, en abst.)

88-KRAKOWER, C. A. ;HOFFMANN, W. A. y AXTMAYER, J. H. -1940

The fate of schistosomes, (S. mansoni), in experimental infections of normal and vitamin A deficient white rats.

P. R. J. Pub. Health. Trop. Med. , 16 : 269-391 (Citado por von Brand, 1973).

89-KRAKOWER, C. A. ;HOFFMANN, W. A. y AXTMAYER, J. H. -1944

Defective granular eggshell formation by Schistosoma mansoni in experimentally infected guinea pigs on a vitamin C deficient diet.

J. Infec. Dis. , 74 :178-183. (Citado por von Brand, 1973).

90-KRUGER, S. P. ;COLLINS, M. H. ;NIEKERT, J. W. ;CULLY, R. M. Mc. y

BASSON, P. A. -1969

Experimental observations on the South African strain of Trichinella spiralis.

Wiadom. Parazitol. , 15 :546-554

91-LAGRANGE, E. -1963

A la recherche de stéroïdes de synthèse à action antibilharzienne.

Comptes Rendus des Seances de la Biologie, Paris. 157:425-427

92-LARSH, J. E. , Jr. y GILCHRIST, H. B. -1950

The effect of a vitamin A deficient diet on the natural and acquired resistance of mice to infection with Trichinella spiralis.

J. Elisha Mitchell. Sci. Soc. , 66 :76-83

(Citado por Larsh, 1963)

93-LARSH, J. E. Jr. -1963

Experimental trichiniasis.

Advances in Parasitologie. Vol. 1 :213-286

94-LIF, H. ; KING, T. E. ; HIGGINS, H. ; BAUMANN, C. A. y STRONG, F. M. -1951

J. Nutr. 44 :361

(Citado por Sós y Székelyi, 1974)

95-Mc. COY, O. R. -1934

The effect of vitamin A deficiency on the resistance of rats to infection with Trichinella spiralis.

Amer. J. Hyg. , 20 :169-180

96-MALDONADO, J. F. y ASENJO, C. F. -1953

The role of pteroylglutamic acid and vitamin B12 on the development of Nippostrongylus muris in the rat,.

Exp. Parasitol. , 4 :374-379

97-MANKAU, S. K. y HAMILTON, R. -1972

The effect of sex and sex hormones on the infection of rats by Trichinella spiralis.

Canadian Journal of Zoology, 50 :597-602

104-NEAFIE, R. C. y HALEY, A. J. -1962

Sex difference in resistance of the mouse *Mus musculus* to infection with the rat nematode *Nippostrongylus brasiliensis*.

J. Parasitol. 48 :151

105-NELSON, G. S. y MUKUNDI, J. -1963

A strain of *Trichinella spiralis* from Kenya of low infectivity to rats and domestic pigs.

J. Helminth. , 37 :329-338

106-NELSON, G. S. y BLACKIE, E. J. -1965

An Alaska strain of *Trichinella spiralis* of low infectivity to laboratory rats.

Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. , 59 :6-7

De Helminth. Abstr. , 1965, 34 :585

107-NELSON, G. S. ;BLACKIE, E. J. y MUKUNDI, J. -1966

Comparative studies on geographical strains of *Trichinella spiralis*

Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. , 60 :417-480

Abstract en :Wiadom. Parazitol. , 14 :210

108-NEWTON, W. L. ;WEISTEIN, P. P. y SAWYER, T. K. -1962

Influence of the intestinal flora on the host-sex effect in *Nematospiroides dubius* in mice.

J. Parasitol. , 48 :51(suppl.)

109-NOVAK, M. -1973

Effect of oestradiol on the invasion of mice livers by *Mesocestoides tetrahyridia*.

Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 67 :422-423

De Helminth. Abstr. , 1974, 43 :385

110-NOVAK, M. -1974

Effect of sex hormones on the growth and multiplication of tetra-
thyridia of Mesocestiodes corti, (Cestoda:Cyclophyllidea), in mice.

International J. of Parasitol. 4 :371-374

111-NOVAK, M. y LUBINSKY, G. -1974

The growth and multiplication of populations of Mesocestoides tetra-
thiridia and steroid hormones.

In Third International Congress of Parasitology. Proceedings Vol 2

FACTA Publication, 1974 :587

112-OHBAYASHI, M. y SAKAMATO, T. -1966

Studies on echinococcosis . VII-Sex difference in resistance to in-
fection with Echinococcus multilocularis in uniform strain of mice.

Jap. J. of Vet. Rsch. , 14 :67-70

(Citado por Frayha y col. , 1971)

113-OSHIMA. T. -1961

Influence of pregnancy and lactation on migration of the larvae of
Toxocara canis in mice.

J. Parasitol. , 47 :657-660

114-PAIK, K. H. -1966

Experimental studies on the effect of helminth infection, with special
reference to gonadectomy of the host.

J. Parasitol. , 4 :23-24, (en coreano, sumario en inglés)

115-PARKER, J. C. -1961

Effect of cortisone on the resistance of the guinea pig to infection
with the rat nematode Nippostrongylus brasiliensis.

Exp. Parasitol. , 11 :380-390

116-PAWLOSKI, Z. y RAUHUT, W. -1971

Comparative observations of three local strains of Trichinella spiralis.

Wiadom. Parazitol. , 17 :481-486

117-PAWLOSKI, Z. ;KOZAKIEWICZ, B. Y ZATONSKI, J. -1974

Effect of sex hormones in experimental echinococcosis in dogs.

In Third International Congress of Parasitology. Proceedings Vol 1

FACTA Publication, (1974) :540-541

118-PEREVERZEVA, E. V. -1966

About strains of Trichinella spiralis .

Wiadom. Parazitol. , 12 :531-541

119-PEREVERZEVA, E. V. -1971

Characteristic of the development of the natural Arctic and Central European strains of Trichinella .

Trudy Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii; 17 :235-239(Ru)

De Helminth. Abstr. , 1973, 42 :3.410

120-PEREVERZEVA, E. V. ;OZERECKOSKAYA, N. N. y WERETENNIKOVA, N. L. -1974

On the development particularities of Trichinella spiralis larvae

Isolated from the racoon, (*Procyon lotor*), muscle, in albino mice.

Wiadom. Parazitol. , 20 :67, (pl, in).

121-PLATZER, E. G. y ROBERTS, L. S. -1969

Developmental physiology of cestodes. V-Effects of vitamin deficient diets and host coprophagy prevention on development of Hymenplepis diminuta.

J. Parasitol. , 55 :1143-1152

122-PLATZER, E. G. y ROBERTS, L. S. -1970 a

Developmental physiology of cestodes . VII-Vitamin B6 and Hymenolepis diminuta: Vitamin levels in the cestode and effects of deficiency on phosphorilase and transaminase activities.

Comp. Biochem. Physiol. , 35 :535-552

123-PLATZER, E. G. y ROBERTS, L. S. -1970 b

Developmental physiology of cestodes. VI-Effect of host Riboflavin deficiency on Hymenolepis diminuta.

Exp. Parasitol. , 28 :393-398

124-PORTER, D. A. -1935

A comparative study of Nippostrongylus muris in rats and mice.

Am. J. Hyg. , 22 :444-466

(Citado por Haley, 1958)

125-RAPPAPORT, T. I. -1942

The pathogenicity of three strains of Trichinella spiralis as indicated by lethal dose and survival time.

J. Parasitol. , 28 :26, (suppl)

126-RAPPAPORT, T. I. -1943 a

A comparison of three strains of Trichinella spiralis . I-Pathogenicity and extent of larval development in the musculature.

Am. J. Trop. Med. , 23 :343-350

127-RAPPAPORT, T. I. -1943 b

A comparison of three strains of Trichinella spiralis . II-Longevity and sex ratio of adults in the Intestine and rapidity of larval development in the musculature.

Am. J. Trop. Med. , 23 :351-362

128-READ, C. P. y SCHILLER, E. L. -1969

Infectivity of Trichinella from the temperate and Arctic zones of North America.

J. Parasitol. , 51 :72-73

129-RITTERSON, A. L. -1960

Attempts to modify innate resistance of chinese hamsters to Trichinella spiralis .

J. Parasitol. , 46 :22, (suppl.)

130-ROBERTS, L. S. y MONG, F. N. -1973

Developmental physiology of Cestodes. XIII-Vitamin B6 requirement of Hymenolepis diminuta during in vitro cultivation.

J. Parasitol. , 59 :101-104

131-SADUN, E. H. -1948

Relation of gonadal hormones to the natural resistance of chickens to the growth of the nematode Ascaridia galli.

J. Parasitol. , 34 :18, (suppl)

132-SADUN, E. H. † TROTTER, J. R. y KEI H, C. K. -1949

Effect of purified diets on host-parasite relationship of chickens to Ascaridia galli.

J. Parasitol. , 35 :13, (suppl)

133-SADUN, E. H. -1952

Gonadal hormones in experimental Ascaridia galli infection in chickens.

Exp. Parasitol. , 1 :70-79

134-SHAD, G. A. y CROWHURY, A. B. -1967

Trichinella spiralis in India. I-Its history in India, rediscovery in Calcuta and the ecology of its maintenance in nature.

Trans. Roy. Soc. Trop. Hyg. 61 :244-248

De Helminth. Abstr. , 1967, 36 :2.922

135-SHAD, G. A. ;NUNDY, S. ;CHOWHURY, A. B. y BANDYOPADHYAY, A. K. -1967

Trichinella spiralis in India. II-Characteristics of a strain isolated from a civet cat in Calcuta.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. , 61 :249-258

De Wiadom. Parazitol. , 14 :293, (Abstr.)

136-SHANTA, C. S. y MEEROVICH, E. -1967

The life cycle of Trichinella spiralis. The intestinal phase of development.

Canad. J. Zool. 45 :1225-1260

137-SOLOMON, G. B. -1963

Effect of gonadectomy on Nippostrongylus brasiliensis , (Travassos), infections in the hamsters.

J. Parasitol. , 49 :37, (suppl)

138-SOLOMON, G. B. y HALEY, A. J. -1968

Development of rat and hamsters strains of Nippostrongylus brasiliensis in gonadectomized male rats and hamsters.

Exp. Parasitol. , 23 :319-322

139-SOLOMON, G. B. -1969

Host hormones in parasitic infections.

International Review of Tropical Medicine. 3 :101-158

(Citado por Gray, 1972)

140-SÓS, J. y LÖDI, S. -1957

En: A Kísérletes Orvostudomány Vizsgáló Módszerei. (Research Methods in Experimental Medicine). Ed. by Kovách Akadémiai Kiadó, Budapest. p. 219. (En hungaro).

(Citado por Sós y Szelenyi, 1974)

141-SÓS, J. y SZELENYI, I. -1974

Diets for animal experiments.

Akadémiai Kiadó, Budapest. 1974

142-SPINDLER, L. A. -1933

Relation of vitamin A to the development of a resistance in rats to superinfections with an intestinal nematode, Nippostrongylus muris.

J. Parasitol., 20 :72

143-STAHL, W. B. -1962

Influences of age and sex on the susceptibility of albino mice to infection with Aspicularis tetraptera.

J. Parasitol., 47 :939-941

144-STOREY, D. M. ;KERSHAW, W. E. y BINGHAM, A. -1974

The effects of nutrition on the host-parasite relationship In cotton rat filariasis.

En: Third International Congress of Parasitology. Proceedings, Vol 2
FACTA Publication, (1974) :631

145-SZIDAT, L. -1959

Hormonale Beeinflussung von Parasiten durch ihren Wirt.

Z. f. Parasit. Kd., 19

146-SZIDAT, L. -1968

Influencias hormonales de los hospedadores sobre sus parásitos,
y su importancia para los problemas de la evolución.

Com. Mus. Argen. Cienc. Nat. Bernardino Rivadavia. Parasitología,
1 :61-78

147-SZIDAT, L. -1971

Neue-Aspekte des Echinococccen Problems.

Angewandte Parasitologie. , 12 :133-143

148-TODD, A. C. y CROWDUS-KY, D. H. -1952

Methyl testosterone in the diet of chicks and growth of the nemato-
de Ascaridia galli.

J. Parasitol. 37 :322

149-TODD, A. C. y HOLLONGS-WORTHK, P. -1952

Host sex as a factor in development of Ascaridia galli.

Exp. Parasitol. , 1 :303-304

150-Von BRAND, T. -1973

Biochemistry of Parasites. 2nd Edición.

Academic Press. Inc. New York and London, 1973

151-VUSSE, F. J. V. -1969

Does cottontell sex or age affect incidence of Taenia pisiformis
cysticerci.?

J. Parasitol. 55 :675-676

152-WADDELL, A. H. ;JARRET, W. F. H. y MURRAY, M. -1971

The influence of sex on intestinal immunological reactions. The
effect of gonadectomy on worms expulsion in rats.

Rev. Vet. Sci. , 12 :396-398

De Helminth. Abstr. , 1971, 40 :4.785

153-WATT, J. Y. C. -1944

The influence of vitamins B1 and B2 upon the resistance of rats to infection with N. muris.

Am. J. Hyg. , 39 :145-151

(Citado por Maldonado y Asenjo, 1953)

154-ZAIMAN, N. H. -1940

The effect of host vitamin E deficiency on Trichinella spiralis infections.

J. Parasitol. , 26 :90, (suppl.)

155-ZIMOROI, I. Y. -1963

Differentiation of infectivity of Trichinella spiralis in passages from carnivorous to rodents.

Gelminty cheloveka, zhivotnykh i rasteniyiborba s nimi K, 85-letn akad. Skriabina. Moskva. :71-74

De Wiadom. Parazitol. , 11 :358