

46
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**FRECUENCIA DE EIMERIA spp. EN RATAS CEPA
WISTAR (Rattus norvegicus) DEL BIOTERIO DEL
INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
EVODIO CERON HERNANDEZ

ASESORES:

**M. V. Z. ANTONIO ACEVEDO HERNANDEZ
M. V. Z. EVANGELINA ROMERO CALLEJAS**

México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	14
DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	25
LITERATURA CITADA.....	26

RESUMEN

CERON HERNANDEZ EVODIO. Frecuencia de Eimeria spp. en ratas - cepa Wistar (Rattus norvegicus) del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, (bajo la dirección de: Antonio Acevedo Hernández y Evangelina Romero Callejas).

Se estudiaron 191 muestras de heces fecales de rata ce pa Wistar, procedentes del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, con el fin de determinar la existencia y frecuencia del género Eimeria. Ya que no hay informes en México de - la frecuencia de Eimeria en ratas de laboratorio.

Se muestrearon a todas las ratas que componen la colonia, obteniendo las heces directamente de las cajas que contengan a las ratas, se colocaban en bolsas de polietileno y se identificaban para que posteriormente se trasladaran al laboratorio de Parasitología de la Fac. de Med. Vet. y Zoot. de - la U.N.A.M., donde se les practicó la técnica de flotación. - De las 191 muestras, 33 resultaron positivas a coccidiosis lo cual representa una frecuencia del 17.27 %; 9.09 % para los machos y el 90.90 % para las hembras. La especie se determinó con base a las características morfométricas de 175 oocistos-analizados, concluyendo que es Eimeria separata la que se encuentra infectando a la colonia de ratas.

INTRODUCCION

El uso de los animales en la experimentación científica es un tema controversial, enfocado a menudo de manera puramente emocional puesto que los animales de una u otra forma sufren. A través de los siglos, muchos descubrimientos que han mejorado el bienestar humano, han sido posibles gracias a los trabajos en animales (20). Tal es el caso de la rata de laboratorio que durante muchos años ha contribuido valiosamente en la investigación biomédica, por su pequeño tamaño, temprana pubertad, fertilidad, etc. por estas y muchas otras características el número de ratas se ha incrementado en el campo de la investigación (17). Se reporta que uno de los animales más usados en la investigación científica es la rata, puesto que en 1960 y 1978 se utilizaron 10 y 20 millones de ratas respectivamente, esto fué en los Estados Unidos (18,20). Dentro de las áreas en las que se emplea el mayor número de animales son: investigación original, control de calidad, educación biomédica, pruebas de toxicidad, evaluación de inocuidad, pruebas diagnósticas, etc. (20).

Numerosas especies del género *Eimeria* son comúnmente parásitos del canal digestivo de sus huéspedes y viven en las células epiteliales a las cuales destruyen o penetran a la submucosa causando la enfermedad llamada coccidiosis. Las especies del género *Eimeria* se encuentran en todos los mamíferos domésticos y además en colonias de animales de laboratorio, tal es el caso de la rata, en donde causa serios problemas (10). Levine and Ivens (8), en su monografía " la coccidia-

de los roedores ", reportan varias especies de *Eimeria* donde su patogenicidad de la mayor parte de las especies es desconocida, pero que sin embargo produce una multitud de efectos patogénicos. Es por esto que el análisis de las heces fecales es una parte importante de un programa de salud para los animales de laboratorio ya sea que el animal, en este caso la rata vaya a ser utilizada como mascota o para la investigación (9).

El género *Eimeria* spp. que infecta a la rata de laboratorio, pertenece a la clase Sporozoa, dicha clasificación se le ha dado ya que este género produce esporas. Todos los esporozoarios viven en el interior del cuerpo de los animales parasitados y pueden ser habitantes intra o extracelulares de sus huéspedes. Estos parásitos son específicos de su huésped y ninguno de ellos posee órganos de locomoción, no tienen boca y se alimentan de líquidos nutritivos del medio en que se encuentran en el interior de sus huéspedes (10).

Diversos investigadores se han preocupado por conocer la etiología de la coccidiosis e identificar las distintas especies que infectan a la rata de laboratorio y la frecuencia con que se presenta la infección, así tenemos que Flynn, R.J. (4), reporta 3 especies de *Eimeria* que son: *E. miyairii*, *E. nieschulzi* y *E. separata*.

Lapage, G. (10), encontró 4 especies de *Eimeria* en la rata: *E. carinii*, *E. miyairii*, *E. nieschulzi* y *E. separata*.

Levine, N.D. and Ivens, V. (11), reporta solamente -

a: E. nieschulzi y E. separata como coccidias propias de la rata de laboratorio.

Long, P.L. (13), Eimerias que se encuentran en las heces de la rata de laboratorio son: E. alischerica, E. bychowskyi, E. contorta, E. miyairii, E. nieschulzi y E. separata.

Mitruka, B.M. and et al. (16), mencionan como protozoarios más comunes en la rata a: E. carinii, E. miyairii y E. separata.

Yokimoff and Gousseff (7), reconocieron 8 especies de Eimeria en la rata, pero la validez de algunas de ellas no ha sido confirmada, por lo que solamente 3 especies son válidas: E. miyairii, E. nieschulzi y E. separata.

Para la identificación de las especies del género Eimeria que afectan a la rata de laboratorio, varios investigadores dan a conocer sus características métricas y morfológicas de las especies más estudiadas:

E. nieschulzi, el oocisto de esta especie presenta una forma elipsoidal u ovoide con ambos extremos cónicos, su pared es de color amarillo pálido y gruesa, lisa o granulosa y en su interior el oocisto presenta un gránulo polar, pero no presenta cuerpo residual ni micrópilo (4,7,11,13) y sus medidas son: de 16 a 26 micras de largo por 13 a 21 micras de ancho (4,7,10,11,13).

E. separata, la forma de los oocistos de esta especie son por lo general elipsoidales, ovoides o subsféricos y su-

pared es lisa de color amarillo pálido y en su interior presenta de 1 a 3 gránulos polares pero no presenta cuerpo residual ni micrópilo, y sus medidas son: de 10 a 19 micras de largo por 10 a 17 micras de ancho (4,7,11).

E. miyairii, los oocistos de esta especie tienen forma esférica o subesférica, con una pared gruesa, radiada, estriada y de color café amarillento. En cuanto a sus medidas, de largo miden de 17 a 29 micras por 16 a 26 micras de ancho (4,7,).

La frecuencia de Eimeria spp. en la rata de laboratorio, depende principalmente del manejo, así como de la técnica utilizada para el diagnóstico (2,14). Todas las especies de Eimeria encontradas en la rata de laboratorio presentan un ciclo biológico directo muy parecido (2,4,10,16).

Un animal infectado por Eimeria spp. arroja los oocistos con las heces fecales y en presencia de oxígeno, la esporulación ocurre, formándose en su interior del oocisto 4 esporozoitos y cada uno de estos contiene 2 esporozoitos. Las ratas se infectan por la ingestión de los oocistos esporulados que pasan a los intestinos del huésped donde los esporozoitos salen de su envoltura y penetran a las células del epitelio intestinal donde se alimentan a expensas de estas células infectadas y por un proceso de esquizogonia forman merozoitos, estos penetran en otra célula intestinal y repiten el proceso, de manera que varias generaciones asexuales esquizogónicas multiplican el número de los parásitos, tarde-

o temprano cesa esta multiplicación y las últimas generacio--
nes crecen hasta formar gametocitos masculinos y gametocitos--
femeninos, estos se unen para formar un cigoto que se protege
con una envoltura doble convirtiendose en oocisto no esporula--
do y este posteriormente va a ser arrojado con las heces ---
(4,7,10).

Se sabe que la coccidiosis en general, presenta una --
marcada especificidad de especie ya que la rata no se ve afec--
tada por otra especie de Eimeria que no sean las descritas --
por los investigadores, aunque las ratas convivan con otras -
especies de roedores (7,10,15). Antes de 1965 se hicieron -
intentos para transmitir Eimeria de un género de roedor a ---
otro, 4 de estos intentos fueron entre ratón (Mus musculus)
y rata (Rattus norvegicus) los cuales fracasaron. Reciente
mente se publicó que la aplicación de inmunosupresores facili--
tan la transmisión de la Eimeria del ratón a la rata tratada--
con dexametazona (15).

Las especies E. nieschulzi y E. separata son las que--
más se emplean para investigación en los laboratorios (13).

A pesar de que la frecuencia de las especies de Eime--
ria en las ratas de laboratorio es discutida, se ha comproba--
do que estas afectan principalmente a las ratas jóvenes y es--
to es por la ingestión de oocistos esporulados (1,2,4,) los
cuales se van a localizar principalmente a nivel del intesti--
no delgado, ciego y colon (7,10,16). Se han asociado a la -
infección por coccidia algunos nematodos para producir altera--

El intestino delgado de la rata son: atrofia de las vellosidades (21), hiperplasia de las criptas, incremento en la filtración de mastocitos de la mucosa. Otros cambios importantes ocasionados principalmente por E. nieschulzi son: aumento en el peso del intestino delgado, aumento en el número de mastocitos, células caliciformes (19), además las células epiteliales tienen el retículo endoplásmico rugoso y las mitocondrias aumentadas de tamaño (21). Otra alteración no menos importante causada por las especies de Eimeria de la rata es la enteritis hemorrágica del intestino delgado (1,22).

Para llevar a cabo un diagnóstico seguro de la enfermedad, este se debe de basar en las lesiones encontradas a la necropsia en asociación con signos de enfermedad (4), además de la presencia de los oocistos encontrados al exámen coproparasitoloscópico (2,16).

Para el tratamiento de la coccidiosis de la rata se han utilizado varias drogas coccidiostáticas que se han reportado como inefectivas en contra de la enfermedad (4).

Las infecciones por coccidia del género Eimeria son raras en colonias de ratas, además de que la infección no se presenta en aquellos bioterios que tengan un buen programa de sanidad y es totalmente desconocida la infección en colonias de ratas que han nacido por medio de cesárea (2,3,4,). Esta infección no es transmisible al hombre (4, 16).

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de Eimeria spp. en ratas cepa Wistar, del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL

Se utilizaron heces de rata, especie Rattus norvegicus variedad albinus (cepa Wistar), que se encuentran alojadas en locales convencionales divididos en 4 áreas, del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la U.N.A.M.

1. Descanso.
2. Unidad Reproductora.
3. Maternidad.
4. Lactancia.

1. Descanso

Area que cuenta en promedio con 80 a 100 ratas entre machos y hembras con una edad de 3 a 7 meses y un peso que va de 250 a 300 gramos para las hembras y de 300 a 400 gramos para los machos, todos estos animales se encuentran distribuidos entre 15 y 20 cajas colectivas de acrílico de 1575-cm. cuadrados, en estas cajas se encuentran alojadas ya sean únicamente hembras o únicamente machos en número de 6 (o sea no estan en apareamiento), área en donde las ratas duran -- aproximadamente 15 días y a la vez entran en un periodo de - desparasitación de 15 días con piperazina y 3 días con mebendazole.

2. Unidad Reproductora.

Area que cuenta con aproximadamente 168 hembras y de - 42 a 45 machos, con una edad aproximada de 4 a 7 meses y un -

peso de 250 a 350 gramos para las hembras y 350 a 450 gramos para los machos, los cuales se encuentran distribuidos en 42- a 45 cajas de acrílico de 1575 cm. cuadrados, cada caja aloja 4 hembras y un macho (o sea se encuentran en apareamiento), durando las ratas en esta área aproximadamente 3 semanas.

3. Maternidad.

En esta área se encuentran de 45 a 60 hembras próximas a parir, con una edad de 4 a 7 meses y un peso de 300 a 350 - gramos, se encuentran individualmente distribuidas en cajas - de acrílico de 936 cm. cuadrados, permaneciendo las ratas en esta área de 2 a 3 días post - parto.

4. Lactancia.

Esta área se encuentra dividida por secciones (en --- cuanto a fecha de parición), la hembra se encuentra junto --- con su camada en una caja individual de acrílico de 936 cm. - cuadrados, la población de hembras en lactancia es muy varia- ble, habiendo desde 80 a 160 hembras, cada hembra con aproxi- madamente 10 crías, las cuales son destetadas a los 30 días - de nacidas y trasladadas al área de consumo para que poste--- riormente sean distribuidas a otros bioterios y laboratorios, las ratas adultas pasan al área de descanso.

En el cuadro número uno se muestra el total de anima-- les tanto machos como hembras utilizados para tal experimento y su distribución por área en cuanto al sexo.

PROCEDIMIENTO

A todas las cajas de cada área en las que se encuentran alojadas las ratas, se les pone cama de serrín de pino - limpio, la cual fué muestreada individualmente, para esto se hizo uso de unas pinzas de disección con las que se colectó - aproximadamente 5 gramos de heces por cajas, dichas heces se depositaban en bolsas de polietileno y se identificaban, tomando como referencia el número de la caja, e inmediatamente despues eran transportadas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.-- A.M., donde eran colocadas en morteros y se trituraban para realizarles un exámen coproparasitoscópico, utilizando la técnica de flotación. A las muestras que resultaron positivas a oocistos de Eimeria se les practicó un exámen morfométrico a dichos oocistos, tomando como referencia la morfología y medidas dadas por los investigadores: Baker, H.J. (2), Flynn, - R.J. (4), Griffith, J.Q.(7) y Levine, N.D.(11), para determinar la especie de Eimeria que se encuentra infectando a la colonia de ratas del Bioterio del Instituto de Fisiología-Celular (pagina 4 y 5).

Para observar las características morfométricas de --- los oocistos, se utilizó el microscopio compuesto de luz blanca y un ocular micrométrico.

CUADRO No. 1.- Número total de ratas, machos y hembras que integran la colonia y su distribución por área.

AREA	DESCANSO	UNIDAD REPRODUC- TORA	MATER-- NIDAD	LACTANCIA	TOTALES
No. DE MACHOS	31	42	-	-	73
No. DE HEMBRAS	83	168	58	72	381
No. TOTAL DE RATAS	114	210	58	72	454

RESULTADOS

De las 454 ratas que conforman la colonia del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular y que se encuentran distribuidas en un total de 191 cajas, 33 de estas cajas resultaron positivas a coccidiosis, arrojando un porcentaje global de 17.27 %; 9.09 % correspondió a los machos y el 90.90 % --- a las hembras (ver cuadro No. 2).

Tomando en cuenta las características morfométricas dadas por los investigadores antes mencionados, la especie de Eimeria que se identificó en las heces de las ratas fué Eimeria separata.

En el cuadro No. 3, se indica el total de cajas muestreadas, el número de cajas que resultaron positivas y la --- frecuencia de coccidiosis por área.

En la figura " A " se muestran dos oocistos de Eimeria separata, en total se observaron 175 oocistos, que fueron medidos para obtener una medida máxima y una mínima, las cuales caen dentro del rango dado para Eimeria separata por diversos investigadores (ver cuadro No. 4 y 5).

CUADRO No. 2.- Porcentaje de muestras (cajas) positivas a Eimeria ---
separata en machos y hembras.

NUMERO DE MUESTRAS	TOTAL DE MUESTRAS POSITIVAS	FRECUENCIA DE POSITIVAS		TOTAL
		MACHOS	HEMRAS	
191	33	9.09 %	90.90 %	17.27 %

CUADRO No. 3.- Porcentaje de frecuencia de Eimeria separata
por área.

AREA	DESCANSO	UNIDAD REPRODUC-TORA.	MATER-NIDAD.	LACTANCIA	TOTALES
No. DE CAJAS MUESTREADAS	19	42	58	72	191
No. DE CAJAS DE MACHOS POSITIVOS	1	2	-	-	3
No. DE CAJAS DE HEMBRAS POSITIVAS	4	9	7	10	30
TOTAL DE CAJAS POSITIVAS	5	11	7	10	33
% TOTAL DE CAJAS POSITIVAS	26.31 %	26.18 %	12.06 %	13.88 %	17.27 %

CUADRO No. 4.- Cifras obtenidas por medio de la medición de 175 oocistos --
de Eimeria separata (م).

AREA	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
DESCANSO	17.5 x 17.5	15 x 13.75	16.25 x 15.62
UNIDAD REPRODUCTORA	17.75 x 17.5	16.25 x 13.75	17 x 15.62
MATERNIDAD	17.5 x 17.5	16.25 x 15	17 x 16.25
LACTANCIA	17.5 x 17.5	15 x 13.75	16.25 x 15.62

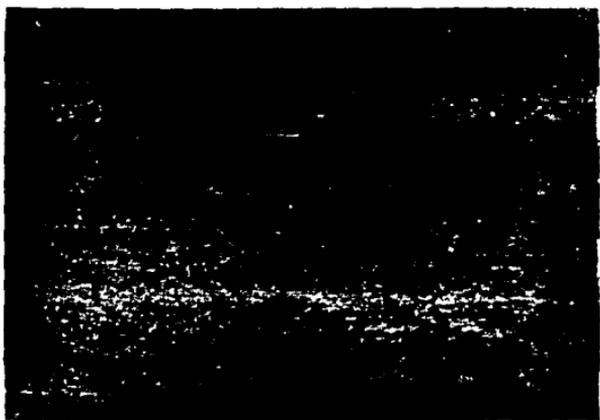


Fig. A.- Oocistos esporulados de Eimeria separata-
en la rata de laboratorio.

CUADRO No. 5

Comparación de medidas (μ) obtenidas por diferentes autores, para oocistos de Eimeria separata reportados en la rata de laboratorio.

BAKER	(2)	10 a 19 x 10 a 17
FLYNN	(4)	10 a 19 x 10 a 17
GRIFFITH		
FARRIS	(7)	16.06 x 13.85
LEVINE		
IVENS	(11)	10 a 19 x 10 a 17
CERON, <u>et al.</u>		16.62 x 15.77

DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo al analizar 191 muestras, se encontró una frecuencia global a coccidiosis del 17.27 %, correspondiendo a los machos una frecuencia del 9.09 % y a las hembras el 90.90 % (ver cuadro No. 2).

Tomando en cuenta que no se encuentran reportes de porcentaje de frecuencia a coccidiosis en la rata de bioterio, podemos considerar de importante el porcentaje de frecuencia reportando en este trabajo (17.27 %), además de que es un porcentaje que tiende a subir dadas las características medio ambientales y de manejo que presentan los bioterios tipo convencional.

En cuanto a la frecuencia general de coccidiosis por área se encontró; 26.31 % para el área de Descanso, 26.18 % para la Unidad Reproductora, 12.06 % para Maternidad y 13.88% para Lactancia (ver cuadro No. 3). Es notorio como ha quedado de manifiesto en lo obtenido, que la sobrepoblación por área y por caja esta en estrecha relación con la presentación de coccidiosis en la colonia de ratas, observándose mayor frecuencia en las áreas que presentan tales características (ver cuadro No. 1).

Como ya se mencionó en los resultados la especie de Eimeria que se encuentra infectando a la colonia de ratas es Eimeria separata, su presencia hace inferir que las condiciones de explotación predisponen en cierto grado a su presen---

cia, ya que según reportes de varios investigadores mencionan que Eimeria separata no es común encontrarla en colonias de ratas de laboratorio (1,3,4).

Otros investigadores reportan que Eimeria separata es común encontrarla en ratas de laboratorio (7,11,13,16), en base a lo reportado se determinó que es E. separata la que se encuentra infectando a la colonia de ratas del Bioterio del Instituto de Fisiología Celular.

En este trabajo el sexo no fué determinante en la presentación de E. separata, puesto que se presentó tanto en machos como en hembras jóvenes y adultas con diferente peso y edad.

Dentro de los bioterios convencionales, las medidas higiénicas y el grado de hacinamiento en las colonias de ratas constituyen los factores predisponentes más importantes para la prevalencia de E. separata, por tal motivo se considera necesario hacer un breve análisis de las condiciones de explotación de ratas del lugar en estudio.

En las áreas del bioterio que se encuentran alojando a la colonia de ratas, la ventilación está dada por medio de ventilas y un extractor de aire, no habiendo control sobre la temperatura. Las cajas que contienen a las ratas son colocadas en estantes de fierro y su número varía en cada área, estas cajas son de acrílico, lavables, equipadas con tapa de acero inoxidable, siendo la superficie utilizable de 936 cm. cuadrados (caja individual) y 1575 cm. cuadrados (caja co-

lectiva), estas solamente son lavadas, ya que no se cuenta con autoclave adecuada para esterilizarlas ni con equipo de sanitización satisfactorio.

Tres veces a la semana se hace cambio de cajas, cama y tapas, poniendose serrín limpio de pino sin ningún tratamiento previo. El equipo sucio es llevado al patio de lavado, donde se lava con agua y detergente comercial.

Durante los días de reposo los sementales y las hembras se mantienen separados por sexo y en número de 6 a 7 por caja.

En las hembras lactantes se busca que lacten únicamente de 6 a 8 crías por hembra, cubriendo el periodo de lactancia un lapso de 30 días, durante el cual se mantiene a la hembra aislada con sus crías en una caja individual de acrílico.

Los animales destetados y el pie de cría desechado (las hembras y los machos son renovados constantemente) son pasados a la sala de consumo. Todas las cajas de cada área están numeradas, exceptuando el área de Descanso donde las hembras son agrupadas en cajas colectivas conforme van siendo destetadas.

La frecuencia del cambio de cajas y cama, sobre todo en los lotes donde existe un exceso de animales es inadecuada ya que se observó que con tres días semanales no se logra tener en condiciones higiénicas aceptables el " habitat " de los animales.

El serrín en las cajas con sobrepoblación suele observarse húmedo, sucio y apelmazado, además de que la temperatura en las salas es elevada lo cual son condiciones favorables para que los oocistos de Eimeria separata esporulen y se conviertan en oocistos infectantes.

En la sala de lavado, debido al gran volumen de material que se debe de lavar diariamente, en ocasiones se observa que las cajas recién lavadas quedan con remanentes de astilla sucia y deyecciones, pese a que se utiliza cepillo y detergente.

El serrín para las camas se almacena en un local destinado al efecto y aunque se procura mantenerlo en buen estado, limpio y seco esto no siempre se logra por las condiciones físicas del lugar.

Se ha considerado que la transmisión de Eimeria separata es principalmente por la ingestión de los oocistos esporulados, tomando en cuenta la humedad de las camas y la temperatura ambiente, esto es posible ya que el tiempo de esporulación de E. separata es de 27 a 36 horas y el cambio de camas es cada 48 horas, tiempo suficiente para que una rata infectada arroje los oocistos con las heces y estos esporulen y adquieran la forma infectante (7).

El cuadro No. 1 nos da una idea de la posible trascendencia de la sobrepoblación en la transmisión de Eimeria separata. Aunque la diferencia en la cantidad de animales, podría calificarse de poco significativa, el hecho es que el grado -

de frecuencia en nuestro trabajo guarda una relación notable con el estado de hacinamiento. Esto podría explicarse por la razón de que un mayor número de individuos en una caja, aumenta la probabilidad de que uno o varios estén infectados aún - antes de ser colocados en ese lugar y transmitir la coccidiosis a las ratas libres.

CONCLUSIONES

De las 191 muestras de heces de rata procedentes del -
Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, 33 resultaron -
positivas (17.27 %) a coccidiosis.

Las medidas y formas de los oocistos obtenidos en el -
presente trabajo corresponden a Eimeria separata.

LITERATURA CITADA

1. Arrington, L.R. and Kling, J.M.: Introductory Laboratory - Animal Science. 2nd ed. Interstate Printers and Publishers, Danville Illinois, 1978.
2. Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H.: The Laboratory Rat. Academic Press, New York, 1979.
3. Benirschke, K., Garner, F.M. and Jones, T.C.: Pathology --- of Laboratory Animals. Springer - Verlag, New York, 1978.
4. Flynn, R.J.: Parasites of Laboratory Animals. Iowa State - University Press, Ames Iowa, 1973.
5. Frandsen, J.C.: Effects of Low - Level infections by --- coccidia and roundworms on the nutritional status of rats fed an adequate diet. J. Anim. Sci., 57: 1487-1497 (1983).
6. Frandsen, J.C.: Effects of restrictions in dietary protein and vitamin A on the responses of rats to infections by --- Nippostrongylus brasiliensis (Nematoda) and N. brasi-
liensis plus Eimeria nieschulzi (coccidia). Internatio-
nal J. Parasit., 15: 523 - 528 (1985).
7. Griffith, J.Q. and Farris, E.J.: The Rat in Laboratory in-
vestigation. Hafner Press, New York, 1949.
8. Hammond, D.M. and Long, P.L.: The Coccidia. University ---
Park Press, Baltimore, 1973.
9. Kirk, R.W.: Terapeutica Veterinaria Práctica Clínica en ---

- Especies Pequeñas. C.E.C.S.A., México, D.F., 1984.
10. Lapage, G.: Parasitología Veterinaria. Continental, México, D.F., 1968.
 11. Levine, N.D. and Ivens, V.: The Coccidian Parasites (Protozoa: Sporozoa) of Rodents. University of Illinois ---- Press, Urbana, Illinois, 1965.
 12. Liburd, E.M.: Eimeria nieschulzi infections in inbred -- and outbred rats: infective dose, route of infection, and host resistance. Can. J. Zool. 51: 273 - 279 (1973).
 13. Long, P.L.: The Biology of the Coccidia. Edward Arnold, - London, 1982.
 14. Mayberry, L.F., Bristol, J.R. and Villalobos, V.M.: Inter generic interactions between Eimeria separata (Apicomple xa) and Nippostrongylus brasiliensis (Nematoda) in the rat. Experientia, 41: 689 - 690 (1985).
 15. Mayberry, L.F. and Marquardt, W. C.: Transmission of Eime ria separata from the normal host, Rattus, to the Mouse, - Mus musculus. J. Parasit., 59: 198 - 199 (1973).
 16. Mitruka, B.M., Rawnsley, H.M. and Vadehra, D.V.: Animals- for Medical Research Models for the Study of Human Disea- se, John Wiley and Sons, New York, 1976.
 17. Organización Mundial de la Salud: Manual para técnicos en animales de laboratorio. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1974.

18. Porter, G. and Lane - Petter, W.: Notes for Breeders of - common Laboratory Animals. Vol. 1. Academic Press, London, 1962.
19. Rose, M.E. and Hesketh, P.: Coccidiosis: T-lymphocyte---- dependent effects of infection with Eimeria nieschulzi -- in rat. Vet. Immunol. Immunopathol., 3: 499 - 508 (1982).
20. Schunemann, de A.A.: Posibles alternativas a la experimen tación con animales. Estudio recapitulativo. Vet. Méx., - 12: 159 - 163 (1981).
21. Sheppard, A.M.: Ultrastructural pathology of coccidial in fection. J. Parasit., 60: 369 - 371 (1974).
22. Stewart, G.L., Reddington, J.J. and Hamilton, A.M.: Eime- ria nieschulzi and Trichinella spiralis: analysis of con- current infection in the rat. Expl Parasit., 50: 115-122- (1980).