

# A latência parasitêmica na infecção do *Gallus gallus* pelo *Plasmodium lophurae*

por

W. Lobato Paraense

(Com 2 tabelas e 7 gráficos)

A conservação de amostras de plasmódios aviários no laboratório é grandemente facilitada pelo fato da latência parasitêmica. Nos animais que sobrevivem à fase aguda da infecção esta entra em latência e daí em diante, praticamente por toda a vida do animal, a subinoculação de sangue transmite a infecção. Só quando o hospedeiro pertence a uma espécie pouco sensível ao parasito, a infecção é mais ou menos rapidamente dominada e extinta. A malária provocada no *Gallus gallus* pelo *Plasmodium lophurae* é geralmente considerada como pertencendo a este último tipo, de infecção transitória.

No trabalho de COGGESHALL (1938) em que foi descrita a espécie *P. lophurae*, este autor preconiza o emprego de pintos como animais sensíveis, devendo ser feita a passagem com intervalos pouco longos porque a infecção tende a se extinguir. De fato, após ter atingido o máximo, a curva parasitêmica entra em rápido declínio, de modo que ao fim de poucos dias os exames tornam-se negativos. Segundo quase todos os autores que se ocuparam do assunto, a infectividade do sangue cessa poucos dias depois da negativação ao exame microscópico. Para TERZIAN (1941) este prazo seria de 3 ou 4 dias, após o qual a subinoculação não mais transmitiria a infecção.

A necessidade de passagens frequentes a fim de não se perder a amostra do parasito é motivo de constante preocupação para quem usa pintos na conservação do *P. lophurae*. O emprego do marreco Pequim (*Anas boschas domestica*), preconizado por WOLFSON (1940, 1941), remove este inconveniente, por se tratar de animal muito mais sensível ao *P. lophurae* e no qual a infecção, quando não provoca a morte, persiste em estado latente talvez pelo resto da vida. Entretanto a criação do marreco Pequim ou de outros Anatídeos é pouco difundida em nosso meio e por este motivo o seu preço, em idade muito jovem, é cerca de seis vezes maior do que o de pintos nas mesmas con-

dições. Isto obriga ao uso de pintos nos trabalhos que exigem inoculação de lotes de animais.

Quando se tem necessidade de manter um parasito em um hospedeiro cuja infecção é fugaz, corre-se o risco permanente de ver interrompida a conservação da amostra. Apesar dos cuidados higiênicos dispensados aos animais de experiência, é impossível evitar de todo a introdução de pintos doentes entre eles. As aves utilizadas por este laboratório são adquiridas no mercado e ficam em observação durante alguns dias, prazo em que morrem alguns animais menos resistentes e são sacrificados os de crescimento retardado ou apenas suspeitos de qualquer doença. Este prazo não pode ser muito longo, principalmente quando se vai inocular o *P. lophurae*, porque com a idade as aves desenvolvem resistência à infecção, capaz de perturbar a uniformidade dos resultados mesmo em um lote inoculado de maneira homogênea.

Na conservação do *P. lophurae* neste laboratório usei a princípio o método de passagens frequentes em pintos de baixa idade, pesando entre 50 e 60 g no momento da inoculação. Entretanto, a despeito das constatações de outros autores, fui verificando que o sangue das aves aparentemente curadas continuava capaz de transmitir a infecção. Tive assim oportunidade de verificar, em um pequeno número de casos, que a infectividade do sangue prolongou-se além do prazo que seria de esperar. É interessante assinalar que a persistência da infecção latente foi evidenciada em quase todas as aves em que este fato foi investigado, com a única exceção de uma tratada com quinina.

Compulsando mais detalhadamente a literatura existente sobre o *P. lophurae*, encontrei duas referências à longa duração da latência na infecção produzida por este plasmódio no *Gallus gallus*. A primeira acha-se no trabalho de Taliaferro e Taliaferro (1940) sobre a imunidade contra a espécie referida, tendo sido evidenciada a infecção latente, até 4 meses após a inoculação, por meio da subinoculação de sangue aparentemente negativo. A outra referência está no trabalho de Terzian (1946) sobre o efeito da esplenectomia na malária aviária, no qual este autor assinala a presença de raros parasitos, evidenciados pelo exame microscópico, no sangue de aves que tinham sido inoculadas há 46 dias.

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de *P. lophurae* foi oferecida a este Instituto pelo Dr. Cecilio Romaña, Diretor do Instituto de Medicina Regional de Tucumán, Repú-

blica Argentina, que a recebeu do Dr. L. T. Coggeshall, da International Health Division, Rockefeller Foundation, New York. Está sendo mantida neste laboratório desde outubro de 1946, através de passagens em pintos que são inoculados com sangue parasitado, pela via intravenosa, entre o 5.º e o 20.º dias de idade.

Para as observações constantes deste trabalho foram utilizados pintos Light Sussex. Os preparados de sangue, corados pelo método de Leishman, foram examinados com objetiva de imersão, contando-se 1.000 hemácias e exprimindo-se em fórmula percentual a intensidade da parasitemia. De todas as aves sacrificadas foram feitos preparados de cérebro, pulmão, fígado, baço e medula óssea, nos quais foram pesquisados parasitos após coloração pelo Giemsa.

Outros detalhes dos métodos empregados serão referidos a propósito de cada experiência.

### DURAÇÃO DA LATÊNCIA

A existência de parasitos no sangue circulante foi investigada em 10 aves escolhidas dentre as sobreviventes de um lote, que haviam sido inoculadas com a dose individual de 50.000.000 de parasitos.

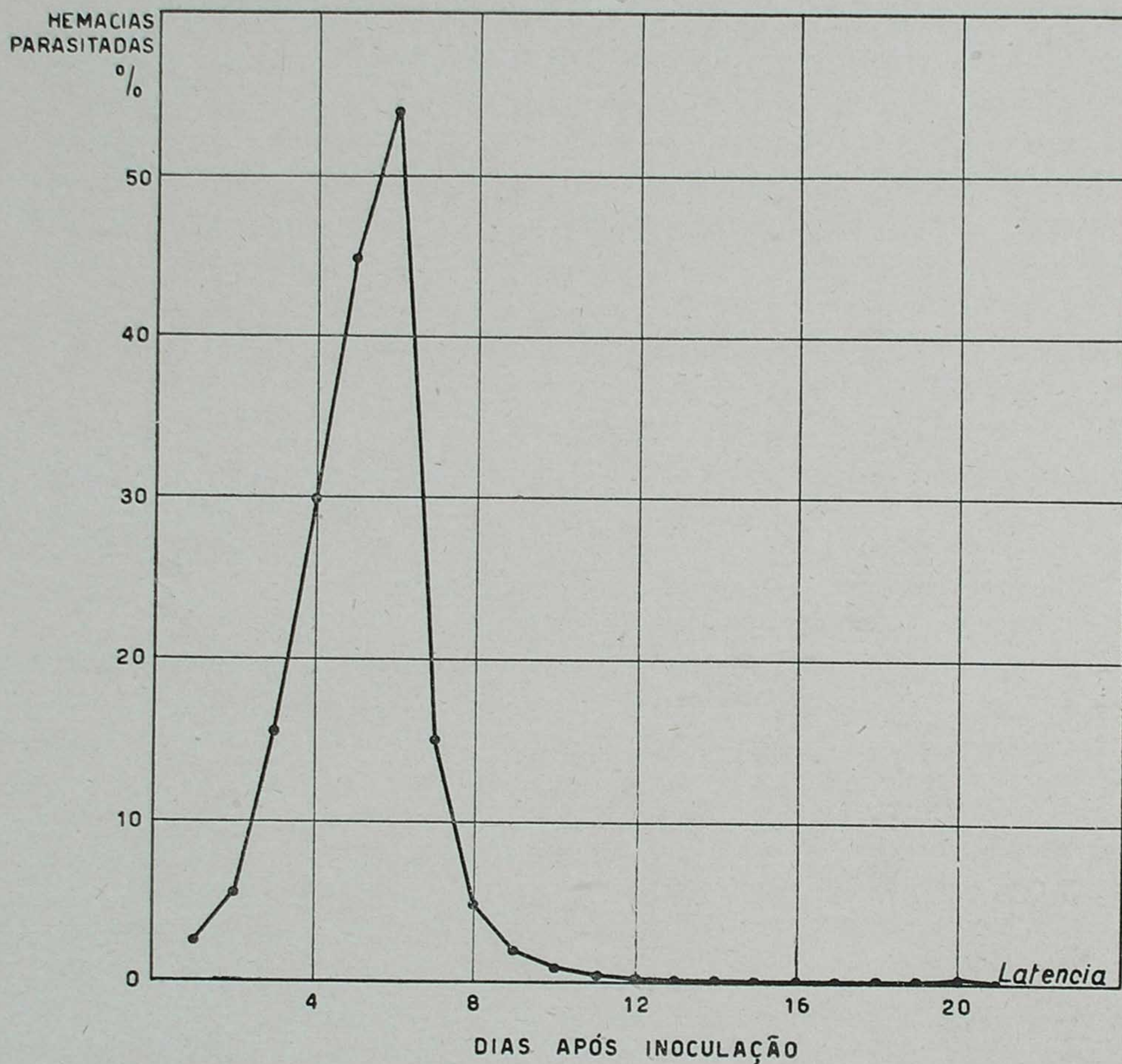
A evolução da infecção aguda foi muito homogênea, permitindo obter-se uma curva representativa (gráfico 1). Transcorrida a fase aguda entrou a infecção em latência, aparecendo eventualmente raros parasitos ao exame microscópico. A pesquisa de parasitos no sangue foi feita diariamente até o 30.º dia, depois em dias alternados até o 60.º dia e depois de 3 em 3 dias até a data da subinoculação. Transcorridos períodos variáveis entre 56 e 330 dias após a inoculação foram feitas subinoculações de sangue dessas aves em pintos de 50 g. Logo depois de fornecer sangue para a subinoculação cada ave foi morta, sendo feitos preparados dos órgãos já mencionados. A quantidade de sangue subinoculada foi de 0.25 ml para as aves ns. 1 a 9 e de 0.5 ml para a ave n.º 10.

Os resultados desta experiência são apresentados na tabela 1. Todas as aves subinoculadas contraíram a infecção, apresentando parasitemia de intensidade variável mas sempre muito discreta, em torno dos valores registrados no gráfico 2.

Estes dados ampliam a observação de Taliaferro e Taliaferro (1940), que constataram a existência de infecção latente até o 4.º mês depois da inoculação. Na presente experiência fica verificada a extensão da latência até cerca de 11 meses. Apesar do pequeno número de animais em que foi feita esta verificação, é de supor que no *G. gallus* a infecção provocada pelo *P.*

*lophurae* mantêm-se por longo tempo na maioria dos casos. Do ponto de vista prático a consequência mais importante deste fato é que a conservação da amostra do parasito no laboratório pode ser facilmente conseguida.

GRAFICO 1



1. Curva parasitêmica média das aves ns. 1 a 10, inoculadas com 50 milhões de parasitos cada ave e usadas em provas de subinoculação para determinar a duração da latência (ver gráfico 2).

### INCREMENTO DA VIRULÊNCIA A PARTIR DA INFECÇÃO LATENTE

Como se depreende da leitura do gráfico 2, os animais inoculados com sangue proveniente de infecções latentes apresentam parasitemia de fraca intensidade. Entretanto é possível incrementar a capacidade reprodutiva dos parasitos utilizando o método de inoculações sucessivas a curtos intervalos.

Este método foi preconizado por Boyd (1925) para o *P. praecox* e reproduzido por Terzian (1941) para o *P. lophurae*, tendo sido empregado satisfatoriamente neste trabalho. No gráfico 3 estão figuradas as curvas parasitêmicas obtidas por este processo, verificando-se que a infecção incrementa progressivamente a cada subinoculação, até se obter uma concentração parasitária capaz de provocar a morte. O gráfico 3 corresponde a uma série de aves inoculadas a partir da ave n.º 10, cuja infecção datava de 330 dias. O pinto n.º 10-a, o primeiro desta série, foi inoculado com 0.5 ml de sangue da ave n.º 10. A ligeira parasitemia que se desenvolveu não foi além de 1.2%. As subinoculações ulteriores, de 0.25 ml. de sangue cada vez mais rico de parasitos, foram feitas quando as curvas parasitêmicas achavam-se próximas ao ponto mais alto, o que era indicado pelo aparecimento de eritroblastos em quantidade apreciável no sangue.

TABELA 1

*Provas de subinoculação de sangue de galinhas infectadas em pintos normais para verificar a duração da latência na malária lophurae.*

AVE DOADORA N.º	DIA DA SUBINOCULAÇÃO (após inoculação)	AVE SUBINOCULADA N.º	RESULTADO DA SUBINOCULAÇÃO
(1)	(2)	(3)	(4)
1	56	1-a	+
2	90	2-a	+
3	120	3-a	+
4	147	4-a	+
5	165	5-a	+
6	180	6-a	+
7	210	7-a	+
8	234	8-a	+
9	276	9-a	+
10	330	10-a	+

+ Positivo.

Os números no alto das colunas destinam-se a referências na tradução inglesa.

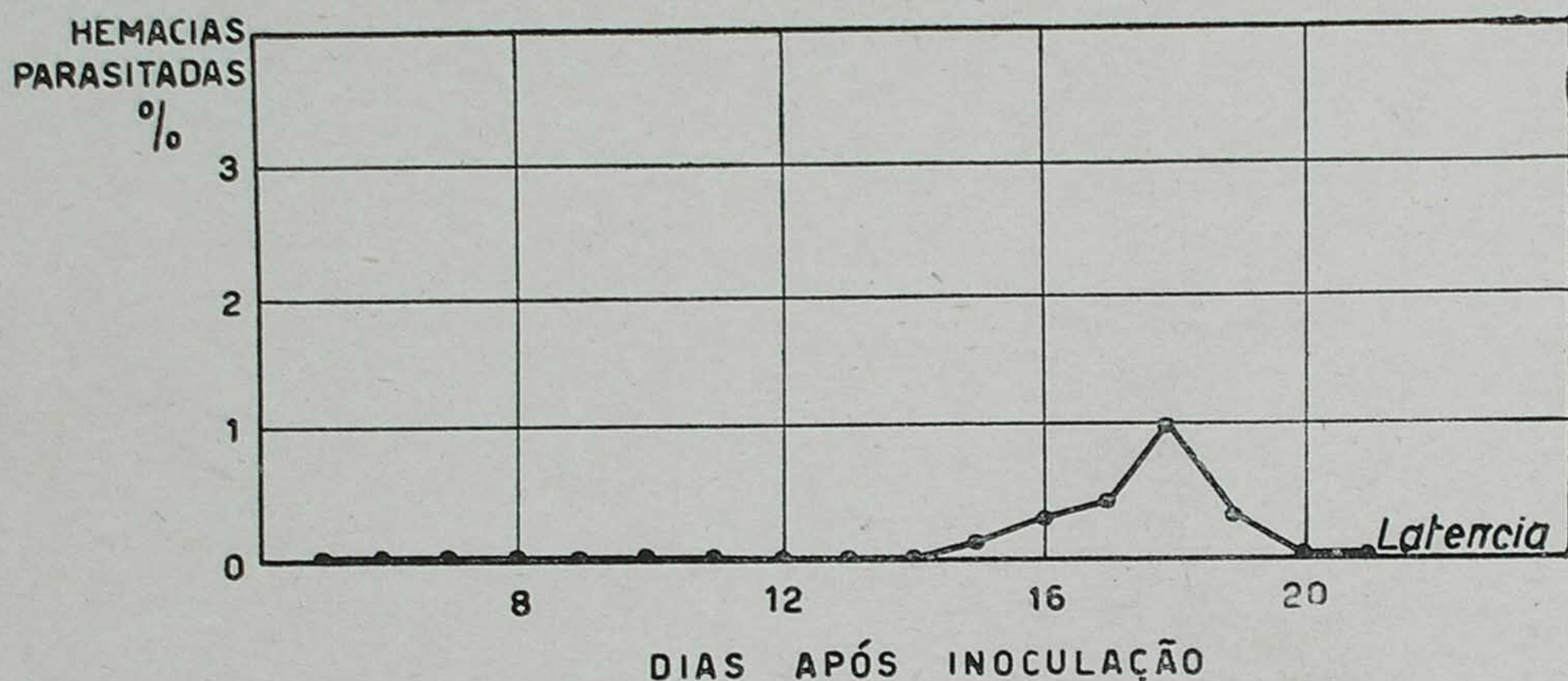
Esta experiência foi repetida em outros casos, com resultados semelhantes. Em todos estes casos a latência havia sido precedida de forte parasitemia aguda, semelhante à das aves do gráfico 1.

O incremento da virulência também foi obtido a partir de infecções latentes precedidas de fraca parasitemia inicial, como aquelas representadas no gráfico 2. O gráfico 4 ilustra uma destas experiências, representando uma série de subinoculações feitas a partir da ave n.º 8-a da tabela 1, que

tinha sido inoculada há 90 dias com sangue da ave n.º 8 para verificação da persistência da infecção latente.

Estas experiências demonstram: 1) que a conservação do *P. lophurae* no *G. gallus* não exige passagens a curto intervalo, sendo assegurada em virtude da latência parasitêmica; 2) que as infecções virulentas e mortais podem ser reproduzidas mediante passagens rápidas a partir das infecções latentes; 3) que este último resultado pode ser obtido indiferentemente a partir da latência subsequente a infecções inicialmente agudas ou crônicas.

### GRAFICO 2



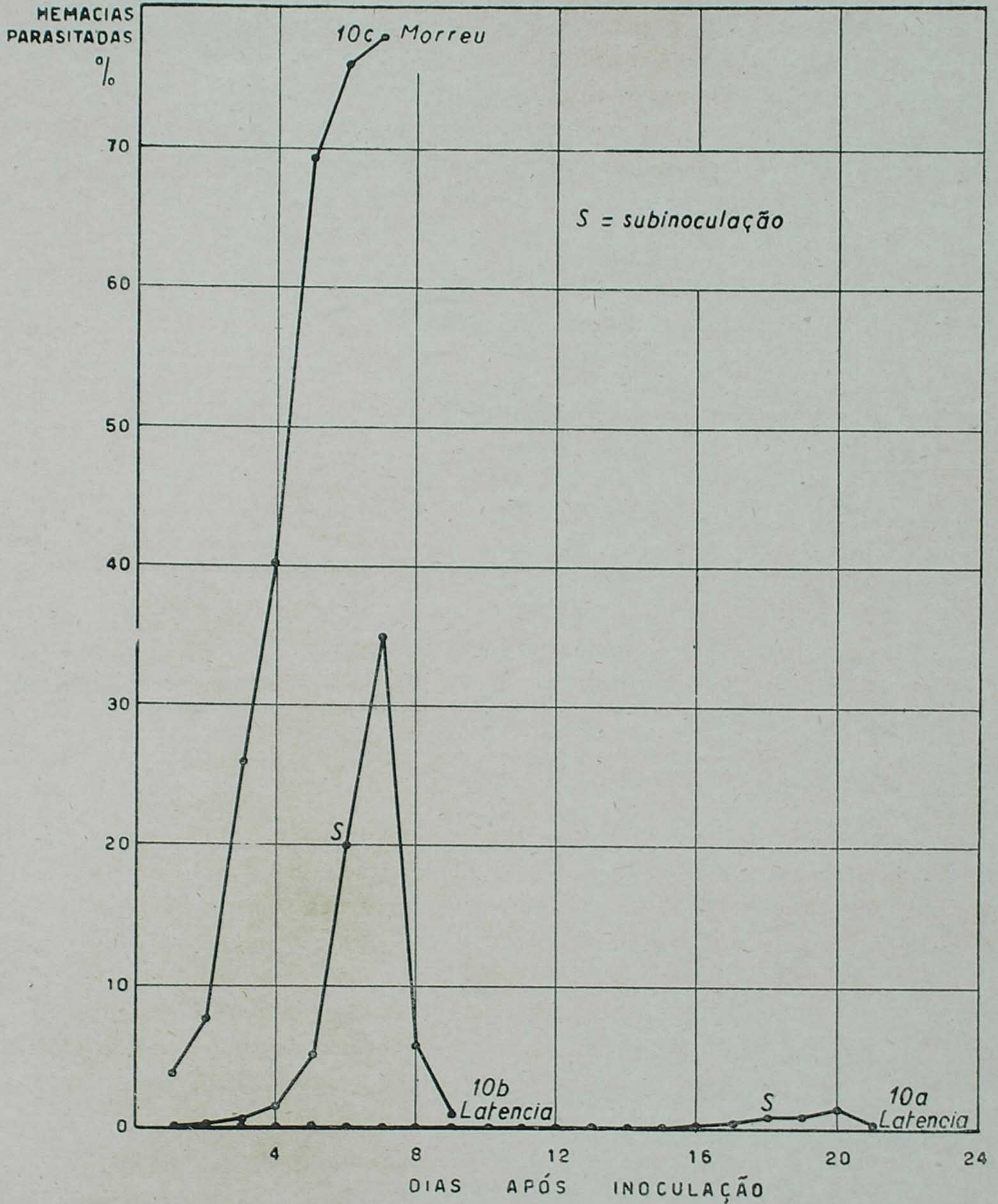
2. Curva representativa da parasitemia dos pintos subinoculados com sangue das aves do gráfico 1, quando a infecção destas últimas contava entre 56 e 330 dias.

### LATÊNCIA NAS AVES TRATADAS COM QUININA

A quinina tem ação definida sobre a parasitemia na malária *lophurae*, produzindo uma cura aparente quando administrada em doses convenientes durante certo número de dias. As minhas observações sobre a latência nesta malária foram estendidas a cinco aves tratadas desde o início até o 20.º dia da infecção. Estas aves foram inoculadas juntamente com aquelas referidas sob o título "*Duração da latência*", com 50 milhões de parasitos eritrocitários. No dia seguinte à inoculação foi iniciado o tratamento com o cloridrato de quinina por via digestiva, administrado em solução aquosa através de sonda, em uma dose diária correspondente a 150 mg por Kg do corpo.

A evolução da infecção destas aves acha-se figurada no gráfico 5. A parasitemia, que no início do tratamento achava-se instalada em torno de 2,6%, começou a declinar no quarto dia após a inoculação, ou seja no terceiro dia do tratamento. O declínio foi vagaroso e uniforme, achando-se

GRAFICO 3



3. Curvas parasitêmicas das aves ns. 10a, 10b e 10c, sucessivamente subinoculadas a partir da ave n.º 10 cuja latência foi precedida de infecção inicialmente aguda do tipo figurado no gráfico 1.

todas as aves negativas aos 9 dias da infecção. Daí em diante só eventualmente foram vistos raros parasitos nos dias assinalados no gráfico 5.

As subinoculações foram feitas quando haviam transcorrido entre 88 e 136 dias após a inoculação destas aves. Em cada subinoculação foram usados 0.25 ml de sangue. Depois as aves doadoras foram mortas e os seus órgãos examinados em preparados corados pelo Giemsa. Na tabela 2 estão reunidos os resultados desta experiência. Com exceção de uma, as aves subinoculadas apresentaram parasitemia de intensidade variável, desde um único parasito ocasionalmente encontrado até o desenvolvimento de infecções pouco intensas, estas últimas figuradas nos gráficos 6 e 7.

Tendo em vista a variação do número de parasitos observados nas aves subinoculadas, não se deve excluir a possibilidade de uma infecção subpatente na única ave negativa.

### PESQUISA DE PARASITOS NOS ÓRGÃOS

Nos preparados de cérebro, pulmão, fígado, baço e medula óssea não foram encontrados parasitos, seja nos glóbulos do sangue, seja nas células hematopoéticas ou retículo-endoteliais. A existência de parasitos eritrocitários no organismo das aves examinadas não pode ser posta em dúvida, desde que a subinoculação de sangue transmitiu a infecção. Em vista disso, é permitido pensar também na possibilidade de existirem parasitos exoeritrocitários em reduzido número e muito dispersos. A explicação da prolongada latência deve ser buscada ou na persistência de formas eritrocitárias resistentes à ação defensiva do organismo ou na existência de formas exoeritrocitárias.

### CONCLUSÕES

1. A existência de infecção latente no *Gallus gallus* inoculado com o *P. lophurae* foi verificada até 330 dias depois da inoculação, sendo este o limite máximo em que foi feita a verificação. Estes resultados foram obtidos pela subinoculação de sangue, na ausência de parasitos reveláveis ao exame microscópico.

2. Resultados idênticos foram verificados em aves tratadas com quinina desde o início da infecção até a negatização da parasitemia. Nestes casos a latência foi pesquisada até 138 dias depois da inoculação.

3. O *G. gallus* é hospedeiro indicado para a conservação do *P. lophurae* no laboratório, permitindo subinoculações a longo intervalo em virtude da latência parasitêmica.



4. Partindo de uma infecção latente obtém-se, por meio de subinoculações sucessivas feitas com pequenos intervalos, o incremento constante da virulência do parasito, até provocar a morte do hospedador. Este resultado pode ser conseguido indiferentemente a partir da latência subsequente a infecções inicialmente agudas ou crônicas.

TABELA 2

*Provas de subinoculação de sangue de galinhas, infectadas e tratadas com quinina desde o início da infecção até a negatização da parasitemia, em pintos normais para verificar a duração da latência na malária lophurae.*

AVE DOADORA N.º	DIA DA SUBINOCULAÇÃO (após inoculação)	AVE SUBINOCULADA N.º	RESULTADO DA SUBINOCULAÇÃO
(1)	(2)	(3)	(4)
11	88	11-a	—
12	96	12-a	+++
13	100	13-a	+
14	114	4-a	+++
15	136	15-a	++

— Negativo até 40 dias após inoculação.

+ Encontrado 1 parasito no 21º dia.

++ Encontrado 1 parasito no 23º e no 41º dias.

+++ Infecção evolutiva discreta.

Os números no alto das colunas destinam-se a referências na tradução inglesa.

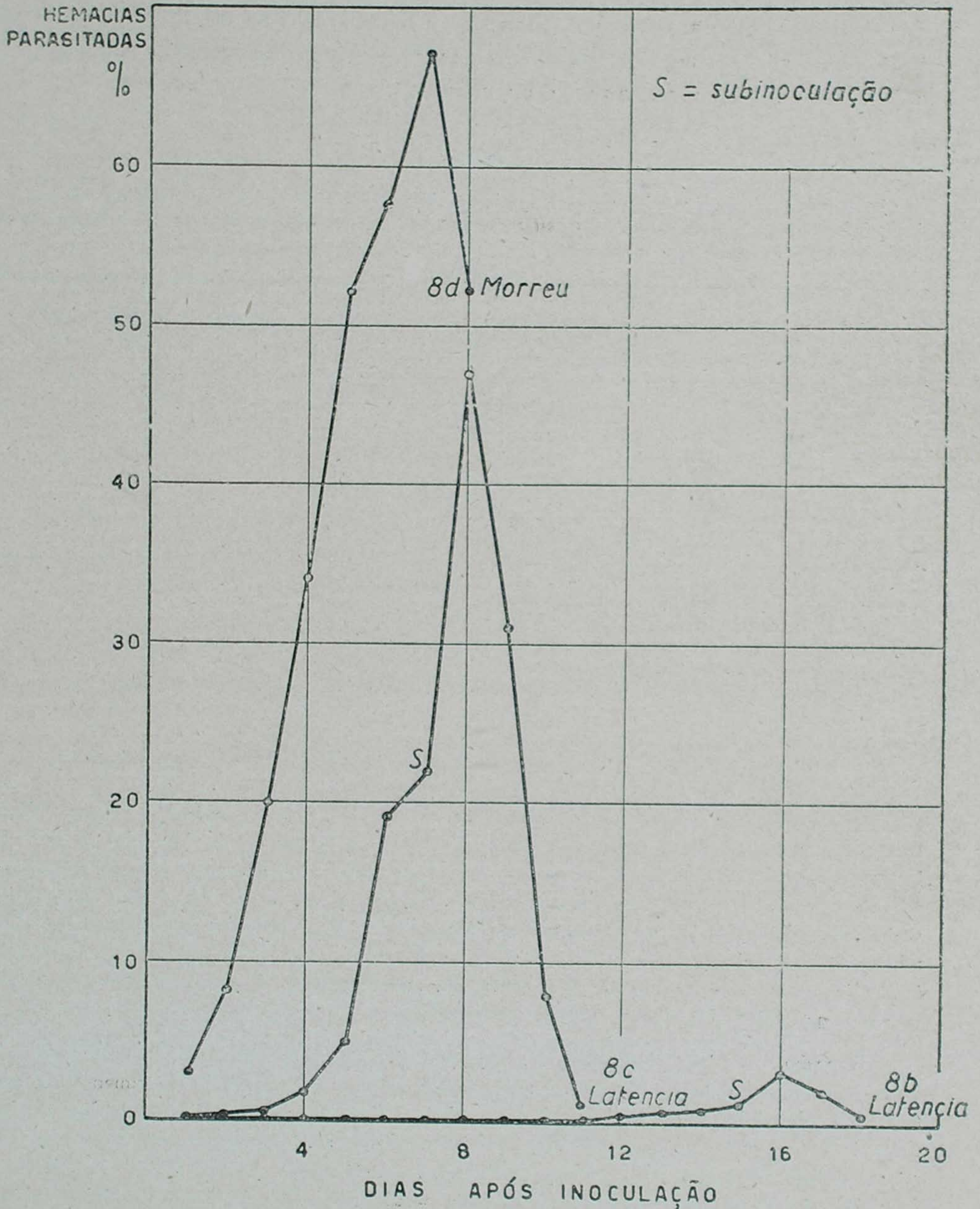
#### THE LATENCY IN LOPHURAE MALARIA OF THE CHICKEN

Generally speaking, avian malarial infections are easy to maintain in the laboratory on account of the latency phenomenon. After the crisis of the parasitemia the malarial organisms become so scanty as hardly to be found by ordinary microscopical examination. This latent stage practically remains throughout the whole life of the bird, during which the subinoculation of this apparently negative blood transmits the infection. Only when the host belongs to a species which has a low degree of sensitivity to the parasite is the infection more or less quickly controlled and sterilized. *Lophurae* malaria in *Gallus gallus* is generally believed to belong to the latter type of transient infection.

Coggeshall (1938), describing *P. lophurae* isolated by him from the Borneo fire-back pheasant (*Lophura i. igniti*), recommended the use of chicks as experimental animals to be inoculated by rapid transfers because their infection tends to disappear. Up to date there is a widespread belief that the infectivity of the blood stops a few days after the microscopical negativity. According to Terzian (1941) this period would be three or four days in length, after which the infection would no longer be transmitted by subinoculation.

Pekin ducks, introduced by Wolfson (1938) in malarial research, is a highly convenient host for *P. lophurae* on account of its great sensitivity to this parasite (Wolf-

GRAFICO 4

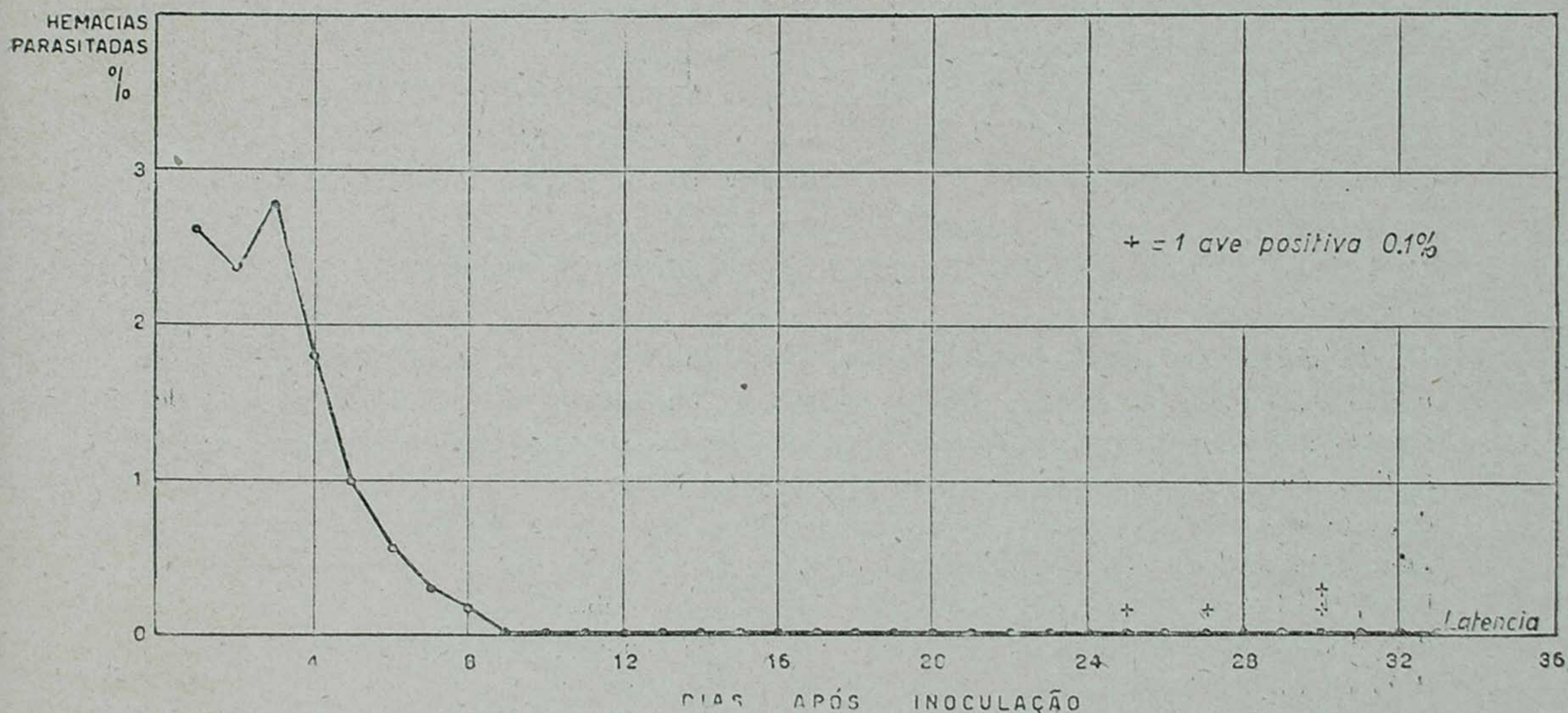


4. Curvas parasitêmicas das aves ns. 8b, 8c e 8d, sucessivamente subinoculadas a partir da ave n.º 8a cuja latência foi precedida de infecção inicialmente crônica do tipo figurado no gráfico 2.

son, 1940, 1941). When the duck recovers from an acute infection it seems to harbor the parasites as long as it lives. The use of the duck as an experimental animal, however, cannot yet be widely adopted among us because its breeding, as of other Anatidae, is little diffused in this country.

In this laboratory *P. lophuræ* was formerly maintained by rapid transfers through baby chicks. In spite of the observations of other authors, however, I have been able to transmit the infection by inoculation of apparently negative blood after longer and longer intervals between transfers. In a more accurate examination of the literature about *P. lophuræ* I found two references to long latency in *G. gallus*, respectively in the study of the Taliaferros (1940) on the immunity against that species, and in the paper of Terzian (1946) on the effect of splenectomy in avian malaria. The former authors were successful in detecting latency by subinoculation of blood from birds which had been inoculated four months previously. Terzian refers to the finding of parasites in scanty numbers by microscopical examination of blood on the 46th day of infection.

GRAFICO 5

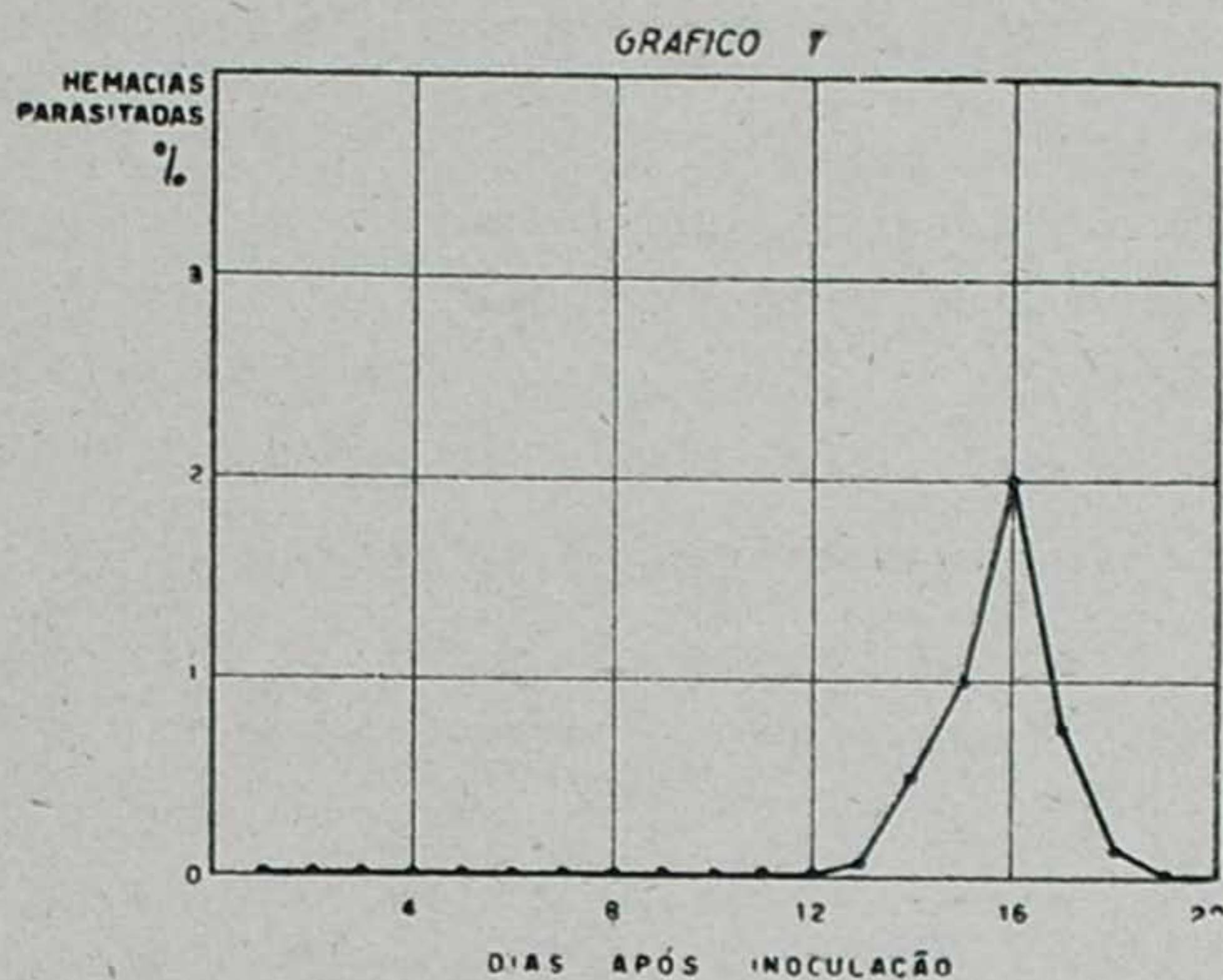
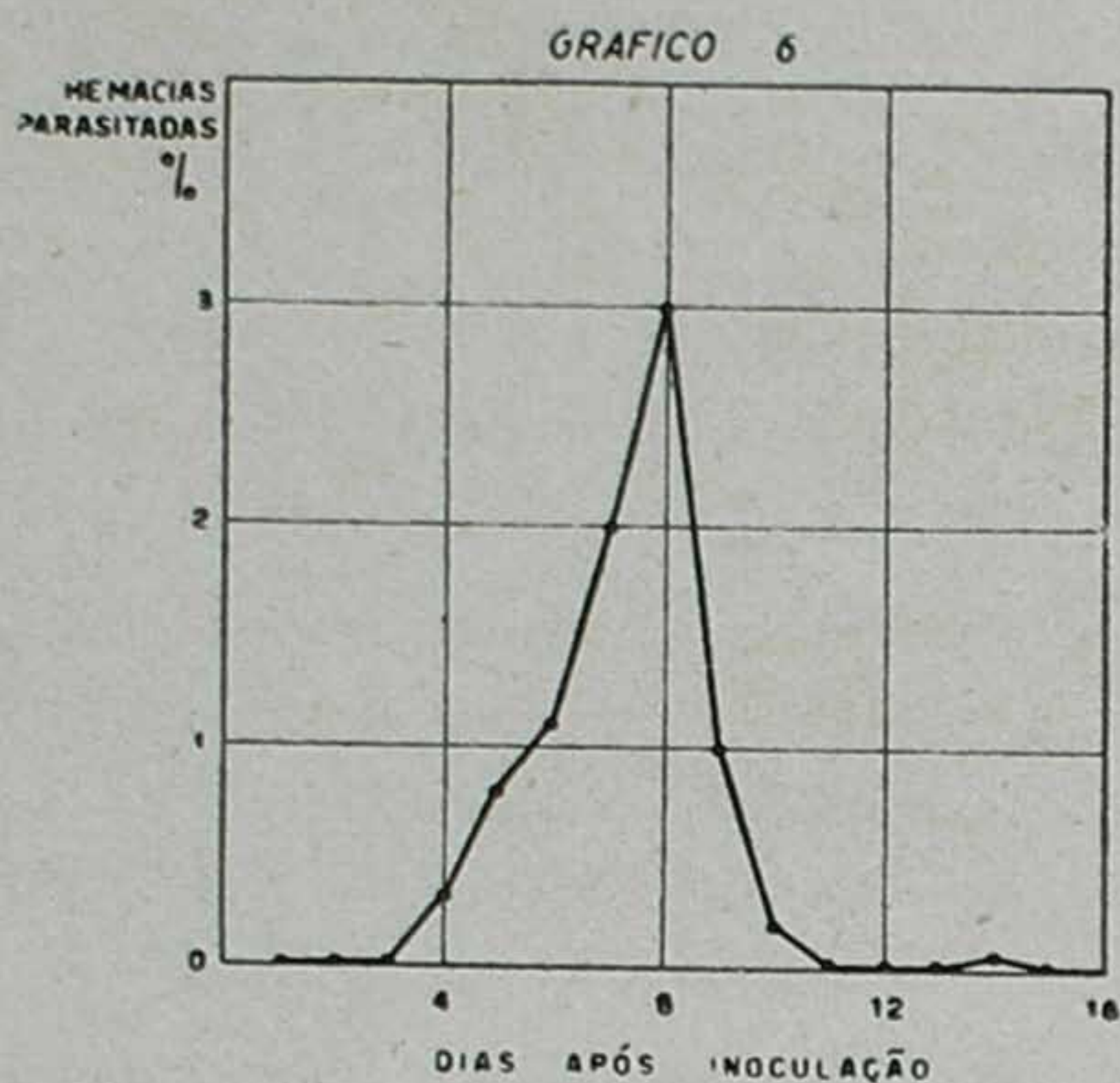


b. Curva parasitêmica média das aves ns. 11 a 15, inoculadas com 50 milhões de parasitos cada ave, tratadas com quinina do 1.º ao 20.º dias após a inoculação e usadas em provas de subinoculação para revelar a latência.

In this laboratory a small number of tests were made for latency in *lophuræ* malaria of chickens. In all but one of them, which was treated with quinine, the subinoculation revealed the persistence of blood parasites in the birds tested over a period that reached almost one year.

*Materials and Methods.* The strain of *P. lophuræ* was kindly supplied for this Institute by Dr. Cecilio Romãna, Director of the Instituto de Medicina Regional de Tucumã, Argentina, who received it from Dr. L. T. Coggeshall, of the International Health Division, Rockefeller Foundation, New York. Since October 1946 this strain has been maintained in this laboratory through intravenous inoculations of parasitized blood into

chicks 5 to 20 days old. For the observations referred to in this paper Light Sussex chicks were used. Blood films were stained with Leishman stain and a thousand red cells were counted in order to reckon the numbers of parasitized erythrocytes per 100 cells. Smears of internal organs (brain, lung, liver, spleen and bone marrow) made from every killed bird were stained with Giemsa and examined for parasites. Other details will be referred to on each experiment.



6. Curva parasitêmica do pinto n.º 12a, subinoculado com sangue da ave n.º 12 do grupo tratado com quinina.
7. Curva parasitêmica do pinto n.º 14a, subinoculado com sangue da ave n.º 14 do grupo tratado com quinina.

*Length of the Latent Period.* Ten surviving chickens of a batch which had been previously inoculated with 50 million parasites per bird were used for the purpose of determining the length of the latency. Graph 1 represents the average curve of parasitemia in these ten chickens. Blood parasites were counted daily to the 30th day, then every two days to the 60th day, and thereafter every three days up to the subinoculation. Blood subinoculations were made at varying periods from 56 to 330 days after inoculation. Every bird was killed immediately after bleeding for subinoculation test and smears of the above mentioned organs were then made. The amount of subinoculated blood was 0.25 ml for the birds ns. 1 to 9 and 0.5 for the bird n.º 10.

The results of this experiment are presented in table 1. Every subinoculated bird became infected, showing a low parasitemia level which remained around the values recorded in graph 2.

This experience shows that latency can be detected up to about eleven months after inoculation, this being the longest period thus far recorded as Taliaferros' observations did not exceed the fourth month of infection.

*Increase of Virulence Starting with a Latent Infection.* Graph 2 shows that birds inoculated with blood of latent cases develop a slight infection. This may be easily increased by the method of rapid transfers. This method was recommended by Boyd (1925) for increasing virulence of *P. praecox* and was employed by Terzian (1941) in *P. lophurae* malaria of fowls. It was satisfactorily reproduced in the present work, as seen in graph 3, which shows the curves of heavier and heavier parasitemia obtained by successive trans-

fers of progressively greater numbers of parasites. Bird n.º 10.a was the first of this series, having been inoculated with 0.5 ml of blood from bird n.º 10, which had a 330 days old infection. A light parasitemia developed which did not exceed 1.2 per cent. Further subinoculations of 0.25 ml of blood were made when the curves of parasitemia were near the peak, as indicated by the outpouring of erythroblasts into the blood.

This experiment was repeated in several other cases with the same results. In every case latency was preceded by a heavy initial parasitemia, as that shown in graph 1.

Increased virulence was also obtained by starting with latent infections which had been preceded by light initial parasitemia as that represented in graph 2. Such an experiment is illustrated by graph 4 in which a series of subinoculations are presented starting with bird n.º 8.a — table 1, which had been inoculated 90 days previously for a latency test with blood of bird n.º 8.

*Latency in Quinine Treated Birds.* Quinine has a definite action on parasitemia in *lophurae* malaria, bringing about an apparent cure when given in proper doses during a number of days. Observations on latency in *lophurae* malaria were made in five chickens treated with quinine from the beginning of the infection to the 20th day. These birds were inoculated with 50 million parasites each, jointly with those referred to above under the head "*Length of the Latent Period*". Quinine hydrochloride diluted in water was administered through stomach tube in one daily dose of 150 mg per kilo, body weight.

In graph 5 the average curve of parasitemia in these birds is presented. Parasitemia began to decrease definitely on the fourth day after inoculation (third day of treatment). The decrease was slow and uniform until the 9th day of infection when every bird was negative. Henceforward some scanty parasites were eventually seen on the days recorded in graph 5.

Subinoculations of 0.25 ml of blood were made between 88 and 136 days after inoculation of these birds. Immediately after each subinoculation the donor bird was killed for microscopical examination of the internal organs. Table 2 summarizes the result of this experiment. All but one of the subinoculated birds became infected. Parasitemia was very variable from chick to chick. Some birds showed only one parasite, some others developed light infections as seen in graphs 6 and 7.

On account of the great variation observed in the numbers of parasites found in subinoculated chicks, the possibility of a subpatent infection should not be excluded in the negative bird.

*Search for Parasites in the Internal Organs.* No parasites were found in erythrocytes, blood-forming and reticulo-endothelial cells of the brain, lung, liver, spleen and bone marrow. Since the infection was transmitted by subinoculation one cannot be doubtful as to the existence of erythrocytic parasites in the organism of the birds. In this order of ideas one may consider also the possibility of exoerythrocytic parasites occurring in a very scanty number through the reticulo-endothelial system to give rise to the subpatent erythrocytic forms. The explanation for the long latency will be found either in the persistence of erythrocytic parasites which remain unaffected by the defensive mechanisms of the body or in the existence of exoerythrocytic schizonts.

*Conclusions :*

1. Latency in *lophurae* malaria of the chicken was seen to occur up to 330 days after inoculation. No investigation was made after this period. In every case latency was detected through subinoculation of microscopically negative blood.

2. Identical results were obtained in chickens which had been previously treated with quinine from the beginning to the 20th day of infection. In these cases latency was tested until 138 days after inoculation.

3. The chick is a suitable host for the maintenance of *lophurae* malaria in the laboratory. The persistence of parasitemia in the subpatent stage allows subinoculations to be made at long intervals.

4. Through successive subinoculations at short intervals starting with a latent case an increase of the virulence is obtained. In this way so high a level of parasitemia is reached as to cause death. This result may be obtained by starting with a bird which has had either a very heavy or a very slight initial infection.

*Explanation of tables :*

Table 1. Subinoculation tests for determining the length of latency in *lophurae* malaria of chickens.

- (1) Donor bird no.
- (2) Day of subinoculation (in days after inoculation).
- (3) Subinoculated bird no.
- (4) Result of subinoculation.
- (+) Positive.

Table 2. Subinoculation tests for determining the length of latency in *lophurae* malaria of chickens treated with quinine from the beginning of the infection to the 20th day.

- (1) Donor bird no.
- (2) Day of subinoculation (in days after inoculation).
- (3) Subinoculated bird no.
- (4) Result of subinoculation.
- (—) Negative to the 40th day after inoculation.
- (+++ ) Slight parasitemia (see graphs 6 and 7).
- (+ ) One parasite seen on the 21st day.
- (++ ) One parasite seen on the 23rd and 41st days.

*Explanation of the graphs :*

Graph 1. Average curve of parasitemia in chicks ns. 1 to 10, inoculated with 50 million parasites and used for latency tests through subinoculation into normal chicks between 56 and 330 days after inoculation.

*Hemacias parasitadas* % = Parasitized erythrocytes per cent.

*Dias após inoculação* = Days after inoculation.

*Latencia* = Latency.

Graph 2. Representative curve of parasitemia for chicks ns. 1a to 10a, subinoculated for latency test with microscopically negative blood from birds ns. 1 to 10 — graph 1.

Graph 3. Curves of parasitemia in chicks ns. 10a, 10b and 10c, successively subinoculated in a series started with bird no. 10 which had an initially heavy infection.

Morreu = Dead.

Subinoculação = Subinoculation.

Graph 4. Curves of parasitemia in chicks ns. 8b, 8c and 8d, successively subinoculated in a series started with bird no. 8a which had an initially slight infection.

Graph 5. Average curve of parasitemia in chicks ns. 11 to 15, inoculated with 50 million parasites, given quinine from the 1st to the 20th day after inoculation and used for latency tests through subinoculation into clean birds.

1 ave positiva 0.1% = One positive bird 0.1 per cent.

Graph 6. Curve of parasitemia in chick no. 12a, subinoculated with blood from bird no. 12 of the quinine treated series.

Graph 7. Curve of parasitemia in chick no. 14a, subinoculated with blood from bird no. 14 of the quinine treated series.

#### REFERENCIAS

BOYD, G. H.

1925. The influence of certain experimental factors upon the course of infections with *Plasmodium praecox*. *Amer. Jour. Hyg.* 5 (6) : 818-838.

COGGESHALL, L. T.

1938. *Plasmodium lophurae*, a new species of malaria parasite pathogenic for the domestic fowl. *Ibid.* 27 (3) : 615-618.

TALIAFERRO, W. H. & L. G. TALIAFERRO

1940. Active and passive immunity in chickens against *Plasmodium lophurae*. *Jour. Inf. Dis.* 66 (2) : 153-165.

TERZIAN, L. A.

1941. Studies on *Plasmodium lophurae*, a malarial parasite in fowls. *Amer. Jour. Hyg.* 33 (1) Sec. C : 1-22.

1946. The effect of splenectomy on avian malarial infections. *Jour. Inf. Dis.* 79 (3) : 215-220.

WOLFSON, F.

1938. The common duck as a convenient experimental host for avian *Plasmodium*. *Amer. Jour. Hyg.* 28 (2) : 317-320.

1940. Successful cultivation of avian Plasmodia in duck embryos. *Ibid.* 32 (2) Sec. C : 60-61.

1941. Avian hosts for malaria research. *Quart. Rev. Biol.* 16 (4) : 462-473.