

ESTUDIO SOBRE EIMERIA PHYLLOTIS N. SP.

POR LUIS GONZALES-MUGABURU

*Departamento de Inmunología y Bacteriología.
Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública.*

El estudio de las Coccidias en los Roedores tiene su inicio en los trabajos de Eimer (1870), sobre la esquizogonia de la *Eimeria falciformis* del pericote blanco (*Mus musculus*), desde aquella época una serie de investigadores han continuado estos trabajos en diferentes roedores, en tal forma que hoy en día hay más de 45 especies descritas en este solo Orden (2). En la bibliografía disponible no existe la descripción de ninguna especie de coccidia del *Phyllotis amicus amicus*, ni aún en la gran obra de Becker (2).

Es de advertir que al mencionar *Phyllotis* nos referimos al *Phyllotis amicus amicus* (?). (9).

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se inició al disponer de algunos *Phyllotis*, proporcionados amablemente por el Dr. M. Hertig, provenientes de varios lugares de nuestra sierra. El material fecal y cecal de dichos roedores fué la fuente para la realización de este trabajo. Las heces han sido sometidas a un proceso de concentración que consistía en: 1° recolección de las heces con palitos de dientes, usados una sola vez, en láminas estériles; 2° emulsificación con solución fisiológica estéril 8.5%; 3° lavado por centrifugación durante 4 minutos (800 r.p.m.); 4° concentración por centrifugación con una solución de sacarosa corriente 35% durante 1 minuto (1000 r.p.m.); 5° se dejan reposar por espacio de 20 minutos en posición vertical y se toma el líquido que sobrenada con un aza. Las mediciones de los ooquistes fueron hechas con ocular 8x y objetivo 45x, calibrados a base de una lámina patrón (Spencer Lens Co Buffalo, E. E. U. U.) y ejecutados por una sola persona. La solución usada para la maduración de los ooquistes ha sido el bicromato de potasio al 3% cuando se trataba de petri y de 5% en gota colgante; estos diferentes por-

centajes han sido fijados después de observar la mayor proporción de ooquistes maduros a diferentes concentraciones. Los citados roedores fueron aislados en jaulas confeccionadas expresamente para este fin de una malla de alambre galvanizado 1/3 de pulgada provisto de un comedero exterior suspendido por cuatro patas a una altura de 4 cm. del piso de un recipiente de latón para coleccionar las heces, 15x15x2 cm., las dimensiones de las jaulas en sí son: 10x10x10 cm. de forma cuadrangular, con abertura en la parte superior (techo). La alimentación consistía en pan remojado en leche, zanahorias peladas, cebada seleccionada, etc. Las coloraciones son en su mayor parte con Giemsa, hematoxilina-eosina, hematoxilina ferrica según Heidenhain.

DESCRIPCIÓN DE LA *Eimeria phyllotis* n. sp.

Los ooquistes de esta especie son eliminados sin segmentar, tienen una forma elíptica alargada que hace recordar mucho a la de un huevo de *Anquilostoma*, pero un poco mas alargado, pues su relación largo-ancho es bastante marcada 1.7-2.0, en ambos extremos termina en semicírculos simétricos, (fig. 1). El citoplasma se encuentra retraído en la parte central y provisto de puntos refringentes bastante visibles; el esporonte está limitado hacia afuera por una línea tanto mas pronunciada cuanto mayor es el tiempo que lleva fuera del huésped. Con frecuencia se encuentran ooquistes en vías de segmentación, lo cual es debido a su reducido tiempo de maduración, el cual ha sido determinado en petri así como en gota colgante en 48-72 horas. La primera división del esporonte, 24-30 horas, se realiza en una forma simultánea por dos surcos perpendiculares uno a otro, siendo uno de ellos paralelo al eje longitudinal del ooquiste; luego, los esporoblastos producto de esta división, adoptan una posición característica (fig. 3); las bases o extremos mas redondeados de los cuatro esporoblastos convergen en la parte central, mientras que las partes opuestas, mas afiladas, divergen, dos a dos, del centro y aparecen al microscopio como vacíos; lo opuesto sucede en los extremos redondeados que se encuentran llenos de puntos refringentes que permiten una diferencia bastante marcada entre ambas zonas; es de advertir que esta fase de segmentación y división de los esporoblastos es muy rápida y observable solo a grandes aumentos. Posteriormente se forman los esporocistos, los cuales están revestidos por una tenue membrana que circunscribe a dos esporozoitos los que adoptan una disposición especial, similar a la *Eimeria magna* del conejo, pero la membrana esporocística se prolonga en uno de los extremos terminando en una concentración de material que aparece en la visión microscópica como un pe-

queño cono de color bruno profundo. Existe un cuerpo granular intra-residual (3.0μ). No hay micropilo visible. Las dimensiones del ooquiste sin segmentar pero fecundado, sobre un total de 700 y provenientes de tres *Phyllotis* 1550, 1553, y 1598 seguidos durante 4, 4 y 6 días respectivamente arrojaron los resultados consignados en los cuadros respectivos (pág. 143 y siguientes), de tal manera que las dimensiones son: largo $22.2 \mu - 30.2 \mu$, ancho $12.2 \mu - 15.8 \mu$ con un tamaño medio de: $26.2 \mu - 14.0 \mu$; las dimensiones de los esporocistos son: $10.0 \mu - 12.0 \mu$ de largo y $3.0 \mu - 4.0 \mu$ de ancho; los esporozoitos miden: largo $9.0 \mu - 10.0 \mu$ y ancho $2.0 \mu - 2.5 \mu$; el grosor de la membrana ooquistica es de $0.8 \mu - 1.0 \mu$; las medidas antes citadas provienen de ooquistes maduros; el esporonte de los ooquistes en vias de maduración mide: $13.5 \mu - 16.2 \mu$; y en el diámetro paralelo al eje longitudinal del coquiste $8.1 \mu - 9.5 \mu$ de ancho; la relación largo-ancho es de: 1.874; las curvas de frecuencias diarias sirven para ilustrar la variación de esta relación en los días consecutivos de una infección (10) y aportan un dato más preciso en la identificación de esta especie. (Ver gráficas Nos. 1, 2 y 3).

Los estadios intracelulares han sido observados en preparaciones hechas del ciego intestinal de *Phyllotis amicus*, tales como 1507 cuyos cortes del ciego son positivos; el 1509 positivo de raspado del ciego intestinal, en el cual se encuentran formas sexuales, microgametocitos y macrogametocitos cuyas medidas de unos pocos arrojaron los siguientes resultados: macrogametocito $18.2 \mu - 19.8 \mu$, microgametocito $19.8 \mu - 21.5 \mu$ y microgametos 3.3μ . De 53 animales controlados 21 fueron autopsiados y el porcentaje de infectados aparece en el cuadro siguiente (pág. 141); el resto fué controlado en laboratorio por períodos de tiempo diferentes y algunos usados para pruebas experimentales. El *Phyllotis* 1553 que diera negativo al realizar la autopsia, los raspados del ciego fueron igualmente negativos. El 1558 positivo solo para esta especie, da resultados positivos en los raspados del ciego mostrando formas esquizogónicas en las cuales son observables perfectamente los estadios mas avanzados provistos con merozoitos. Todas estas formas intracelulares han sido encontradas en células epiteliales que presentan su núcleo desplazado por la invasión del parásito. Lesiones macroscópicas no han sido posible observar.

Pruebas experimentales

Dada la gran distribución de esta especie de coccidia (38.1 %) en el *Phyllotis*, muy posiblemente debido a su corto tiempo de maduración, y la imposibilidad de obtener estos roedores nacidos en laboratorio li-

PHYLLOTIS autopsiados en laboratorio sin previo control

Número	Fecha	Sexo	Procedencia	E. phyllotis
1507	27/2	Macho	Matucana	Positivo +
1509	30/4	Macho	Matucana	Positivo +
1555	6/5	Macho	Huinco	Negativo —
1556	8/5	Macho	Huinco	Negativo —
1557	8/5	Macho	Huinco	Negativo —
1558	13/5	Macho	Huinco	Positivo +
1559	15/5	Macho	Huinco	Negativo —
1560	15/5	Macho	Huinco	Negativo —
1561	17/5	Macho	Huinco	Negativo —
1562	17/5	Macho	Matucana	Positivo +
1563	17/5	Macho	Nacido Lab.	Negativo —
1564	17/5	Macho	Nacido Lab.	Negativo —
1565	19/5	Macho	Huinco	Negativo —
1566	19/5	Macho	Huinco	Positivo +
1567	29/5	Hembra	Huinco	Positivo +
1568	29/5	Hembra	Nacido Lab.	Positivo +
1569	29/5	Hembra	Huinco	Positivo +
1577	6/6	Hembra	Huinco	Negativo —
1578	7/6	Hembra	Matucana	Negativo —
1580	10/6	Hembra	Nacido Lab.	Negativo —
1589	5/8	Hembra	Matucana	Negativo —

Procedencia	Total de Examinados	Positivo	Negativo	Porcent. de Positivo	Porcent. de Negativo
Matucana	5	3	2	60 %	40 %
Huinco	12	4	8	33.3 %	66.7 %
Laboratorio	4	1	3	25 %	75 %
TOTAL	21	8	13	38.1 %	61.9 %

Sexo	Total de Examinados	Positivo	Negativo	Porcent. de Positivo	Porcent. de Negativo
Machos	14	6	8	42.8 %	57.2 %
Hembras	7	2	5	28.6 %	71.4 %

bres de coccidias, es que las pruebas experimentales llevadas a cabo puedan valer solo como una guía para futuros estudios experimentales en lo que se refiere al periodo prepatente. En los animales que se logró inocular ooquistes maduros de *Eimeria phyllotis*, estos demostraron su infección a partir del 5º al 8º día.

Pruebas de transferencia

Para probar la especificidad de huésped se han realizado inoculaciones en ratas y pericotes blancos, nacidos en laboratorio libres de coccidias, pues fueron controlados desde las madres para obtener animales jóvenes libres de cualquier especie de coccidia. Tres pericotes blancos de 16 días de edad fueron inoculados con 8000 ooquistes por vía oral cada uno dando resultados negativos hasta 14 días después de la fecha de inoculación en que fueron descartados; como control se usó un pericote blanco el cual no mostró ooquistes de *Eimeria phyllotis* en ningún momento.

Dos ratas blancas de 51 días de edad fueron inoculadas con un número desconocido de ooquistes de *Eimeria phyllotis*, las cuales dieron resultados negativos hasta los 30 días de inoculadas, después de lo cual fueron descartadas.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN DE LA *Eimeria phyllotis* n. sp.

Posición sistemática: *Eimeria phyllotis* n. sp. (Coccidiida, Eimeriidae).

Huésped: *Phyllotis amicus* (?).

Localidad: Matucana, Huinco.

Forma: elíptica alargada.

Color: rosado.

Envoltura: doble membrana.

Micropilo: no visible.

Cuerpo extraresidual: ausente.

Cuerpo intraresidual: presente.

Localización: ciego intestinal.

Tiempo de maduración: 48-72 horas.

Tamaño: largo: 22.16 μ - 30.23 μ ; media 26.2 μ .

ancho: 12.22 μ - 15.78 μ ; media: 14.0 μ .

esporonte: 13.5 μ - 16.2 μ .

esporocisto: largo 10.0 μ - 12.0 μ ; ancho 3.0 μ - 4.0 μ .

esporozoito: largo 9.0 μ - 10.0 μ ; ancho 2.0 μ - 2.5 μ .

cuerpo intraresidual: 3.0 μ .

grosor de la membrana ooquistica: 0.8 - 1.0 μ .

Periodo prepatente: 5-8 días (?).

Relación largo-ancho: 1.874.

RESUMEN DE LOS DATOS BIOMETRICOS DEL PHYLLOTIS N° 1550

Junio 30, 1940.

	Ancho	Largo
Media	12.3997 $\mu \pm 0.1070 \mu$	24.3000 $\mu \pm 0.1570 \mu$
Desv. standard	1.1223 $\mu \pm 0.0756 \mu$	1.6460 $\mu \pm 0.1110 \mu$
Coef. de variación	9.051 %	6.773 %
Límites	10.1551 μ — 14.6443 μ	21.0580 μ — 27.6420 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.889.

Julio 1°, 1940

	Ancho	Largo
Media	13.243 $\mu \pm 0.0878 \mu$	24.381 $\mu \pm 0.1766 \mu$
Desv. standard	0.9211 $\mu \pm 0.0621 \mu$	1.8524 $\mu \pm 0.1249 \mu$
Coef. de variación	6.9098 %	7.5960 %
Límites	11.401 μ — 15.085 μ	21.676 μ — 27.085 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.836.

Julio 2, 1940

	Ancho	Largo
Media	13.5337 $\mu \pm 0.0522 \mu$	25.1370 $\mu \pm 0.1382 \mu$
Desv. standard	0.5479 $\mu \pm 0.0369 \mu$	1.4427 $\mu \pm 0.0977 \mu$
Coef. de variación	4.0484 %	5.7393 %
Límites	12.4379 μ — 14.6295 μ	22.2516 μ — 28.0224 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.830.

Julio 3, 1940

	Ancho	Largo
Media	13.702 $\mu \pm 0.0715 \mu$	24.439 $\mu \pm 0.1842 \mu$
Desv. standard	0.7506 $\mu \pm 0.0506 \mu$	1.9314 $\mu \pm 0.1302 \mu$
Coef. de variación	4.780 %	7.886 %
Límites	12.201 μ — 15.203 μ	20.626 μ — 28.351 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.781.

RESUMEN DE LOS DATOS BIOMETRICOS DEL PHYLLLOTIS N° 1553

Junio 25, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.6745 $\mu \pm 0.0868 \mu$	27.675 $\mu \pm 0.1959 \mu$
Desv. standard	0.9158 $\mu \pm 0.0614 \mu$	2.0547 $\mu \pm 0.1385 \mu$
Coef. de variación	6.2066 %	7.4243 %
Límites	12.8529 μ — 16.4961 μ	23.5656 μ — 31.7844 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.883.

Junio 26, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.215 $\mu \pm 0.0946 \mu$	26.622 $\mu \pm 0.2218 \mu$
Desv. standard	0.9927 $\mu \pm 0.0669 \mu$	2.3257 $\mu \pm 0.1568 \mu$
Coef. de variación	6.9832 %	8.7360 %
Límites	12.229 μ — 16.200 μ	22.020 μ — 31.323 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.869.

Junio 27, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.3775 $\mu \pm 0.0704 \mu$	26.271 $\mu \pm 0.1626 \mu$
Desv. standard	0.7383 $\mu \pm 0.0497 \mu$	1.7049 $\mu \pm 0.1149 \mu$
Coef. de variación	5.1351 %	6.489 %
Límites	12.9011 μ — 15.8541 μ	22.8612 μ — 29.6808 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.823.

Junio 28, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.593 $\mu \pm 0.0711 \mu$	26.595 $\mu \pm 0.1336 \mu$
Desv. standard	0.7462 $\mu \pm 0.0503 \mu$	1.4007 $\mu \pm 0.0944 \mu$
Coef. de variación	5.112 %	5.264 %
Límites	13.100 μ — 16.085 μ	23.793 μ — 29.396 μ

RELACION: Largo/Ancho, 1.804.

RESUMEN DE LOS DATOS BIOMETRICOS DEL PHYLLOTIS N° 1598

Setiembre 18, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.2087 $\mu \pm 0.0674 \mu$	27.1620 $\mu \pm 0.1540 \mu$
Desv. standard	0.7076 $\mu \pm 0.0477 \mu$	1.6155 $\mu \pm 0.1089 \mu$
Coef. de variación	4.980 %	5.9476 %
Límites	12.7935 $\mu - 15.6239 \mu$	23.9310 $\mu - 30.3930 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.886

Setiembre 19, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.0737 $\mu \pm 0.0636 \mu$	25.8110 $\mu \pm 0.1302 \mu$
Desv. standard	0.6679 $\mu \pm 0.0450 \mu$	1.3680 $\mu \pm 0.0920 \mu$
Coef. de variación	4.7457 %	5.300 %
Límites	12.7379 $\mu - 15.4095 \mu$	23.0750 $\mu - 28.5470 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.879

Setiembre 20, 1940.

	Ancho	Largo
Media	27.5940 $\mu \pm 0.2461 \mu$	14.1277 $\mu \pm 0.0704 \mu$
Desv. standard	2.5802 $\mu \pm 0.1740 \mu$	0.7384 $\mu \pm 0.0498 \mu$
Coef. de variación	9.3505 %	5.2260 %
Límites	22.4336 $\mu - 32.7544 \mu$	12.6509 $\mu - 15.6045 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.926.

Setiembre 21, 1940.

	Ancho	Largo
Media	13.560 $\mu \pm 0.6153 \mu$	26.5680 $\mu \pm 0.1328 \mu$
Desv. standard	0.6451 $\mu \pm 0.0435 \mu$	1.3926 $\mu \pm 0.0939 \mu$
Coef. de variación	4.757 %	5.2416 %
Límites	12.270 $\mu - 14.850 \mu$	23.7828 $\mu - 29.3532 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.899

Setiembre 22, 1940.

	Ancho	Largo
Media	14.345 $\mu \pm 0.0669 \mu$	26.4060 $\mu \pm 0.1318 \mu$
Desv. standard	0.7024 $\mu \pm 0.0473 \mu$	1.3853 $\mu \pm 0.0932 \mu$
Coef. de variación	4.9694 %	5.2461 %
Límites	12.7297 $\mu - 15.5393 \mu$	23.6354 $\mu - 29.1766 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.864.

Setiembre 23, 1940.

	Ancho	Largo
Media	13.9725 $\mu \pm 0.0497 \mu$	26.4735 $\mu \pm 0.1344 \mu$
Desv. standard	0.5213 $\mu \pm 0.0351 \mu$	1.4093 $\mu \pm 0.0950 \mu$
Coef. de variación	3.7308 %	5.323 %
Límites	12.9299 $\mu - 15.0151 \mu$	23.6549 $\mu - 29.2921 \mu$

RELACION: Largo/Ancho. 1.916.

CONCLUSIONES

- 1° En el *Phyllotis amicus amicus* (?) de nuestra sierra existe una especie de Coccidia, *Eimeria phyllotis*, cuya descripción ha sido expuesta.
- 2° Dicha especie pertenece al género *Eimeria*, pues posee 4 esporocistos con dos esporozoitos cada uno y a la familia Eimeriidae pues se han hallado los microgametos libres y móviles.
- 3° No existiendo en la literatura la descripción de esta especie propongo la denominación de *Eimeria phyllotis*.

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento al Director del Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública Dr. Telémaco S. Battistini, quien me ha proporcionado todas las facilidades para llevar a cabo estos trabajos.

BIBLIOGRAFIA

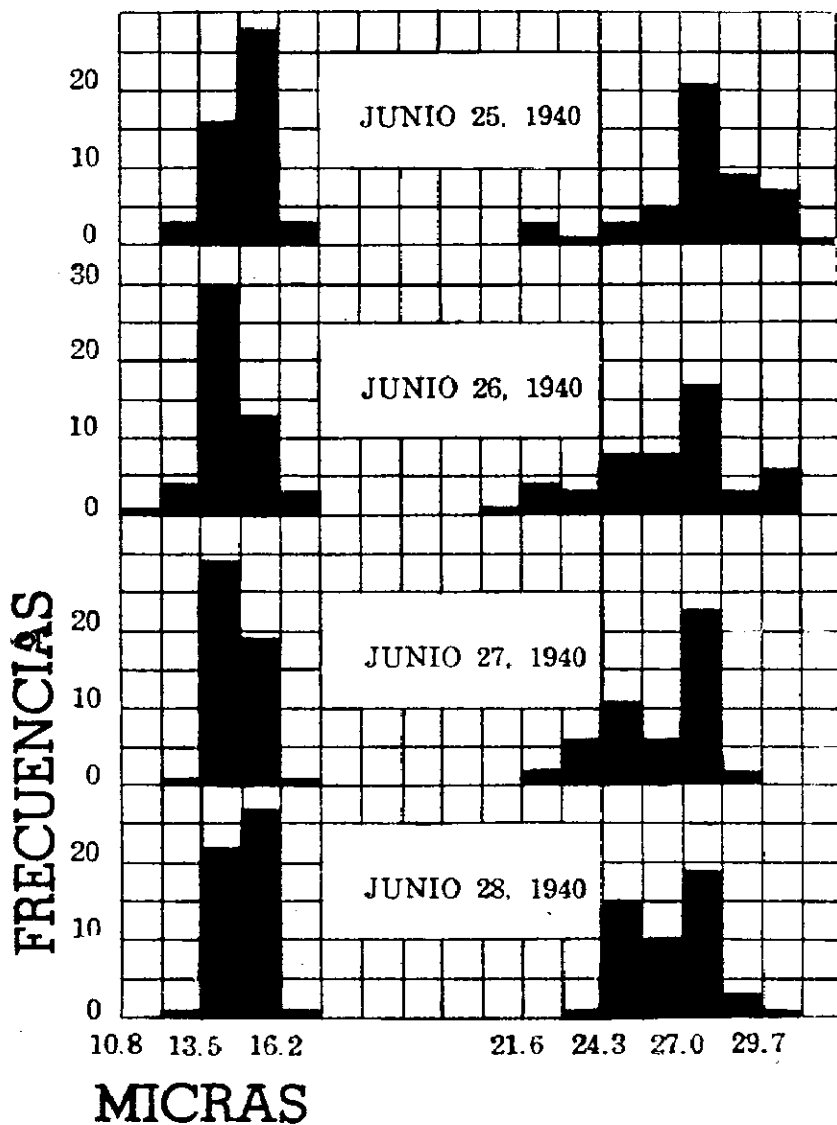
1. J. ANDREWS : *American Journal of Hygiene*, v. 13, p. 183, 1932.
2. E. R. BECKER : *Coccidia and coccidiosis of domesticated game and laboratory animals and of man*. Coll. Press. Inc. Ames Iowa. 1934.
3. E. R. BECKER y P. R. HALL : *American Journal of Hygiene*, v. 18, p. 220, 1933.
4. G. H. CALKINS : *The Biology of Protozoa*. Lea and Febiger Philadelphia, 1933.
5. J. CHRISTENSEN : *Journal of Parasitology*, v. 24, p. 453, 1938.
6. C. B. DAVENPORT y P. M. EKAS : *Statistical methods in Biology Medicine and Psychology*. John Wiley and Sons Inc., 1936.
7. FREDERIC FISH : *American Journal of Hygiene*, v. 14, p. 560, 1931.
8. R. HEGNER y J. ANDREWS : *Problems and methods of research in Protozoology*. MacMillan Co. New York, 1930.
9. A. HERRER : *Revista de Ciencias* N° 441, p. 395, 1942.
10. J. F. KESSELL y H. A. JANKIEWICZ : *American Journal of Hygiene*, v. 14, p. 304, 1931.
11. E. E. TYZZER : *American Journal of Hygiene*, v. 10, p. 269, 1929.
12. C. M. WENYON : *Protozoology*, Tindall and Cox, London, 1926.

GRAFICA Nº 1 — DATOS BIOMETRICOS DIARIOS

PHYLLOTIS 1553

Diámetro transversal

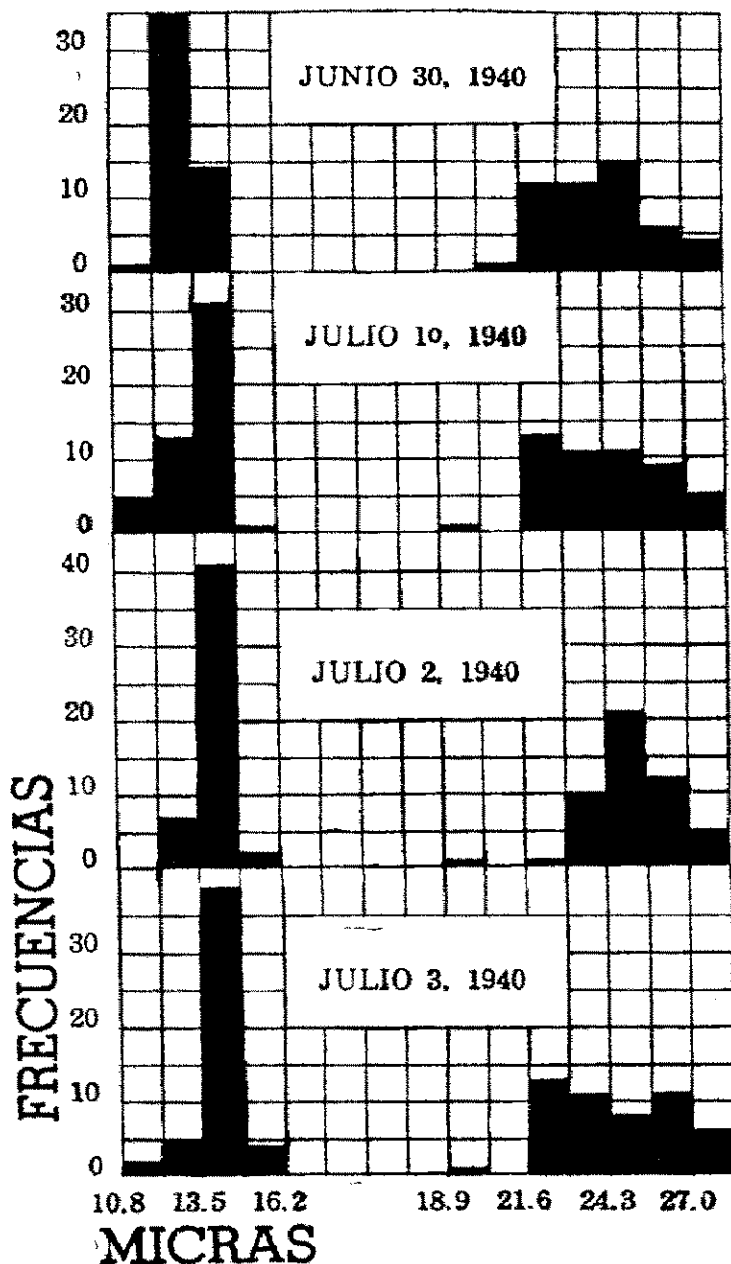
Diámetro longitudinal



GRAFICA N° 2 — DATOS BIOMETRICOS DIARIOS
 PHYLLOTIS 1550

Diámetro transversal

Diámetro longitudinal

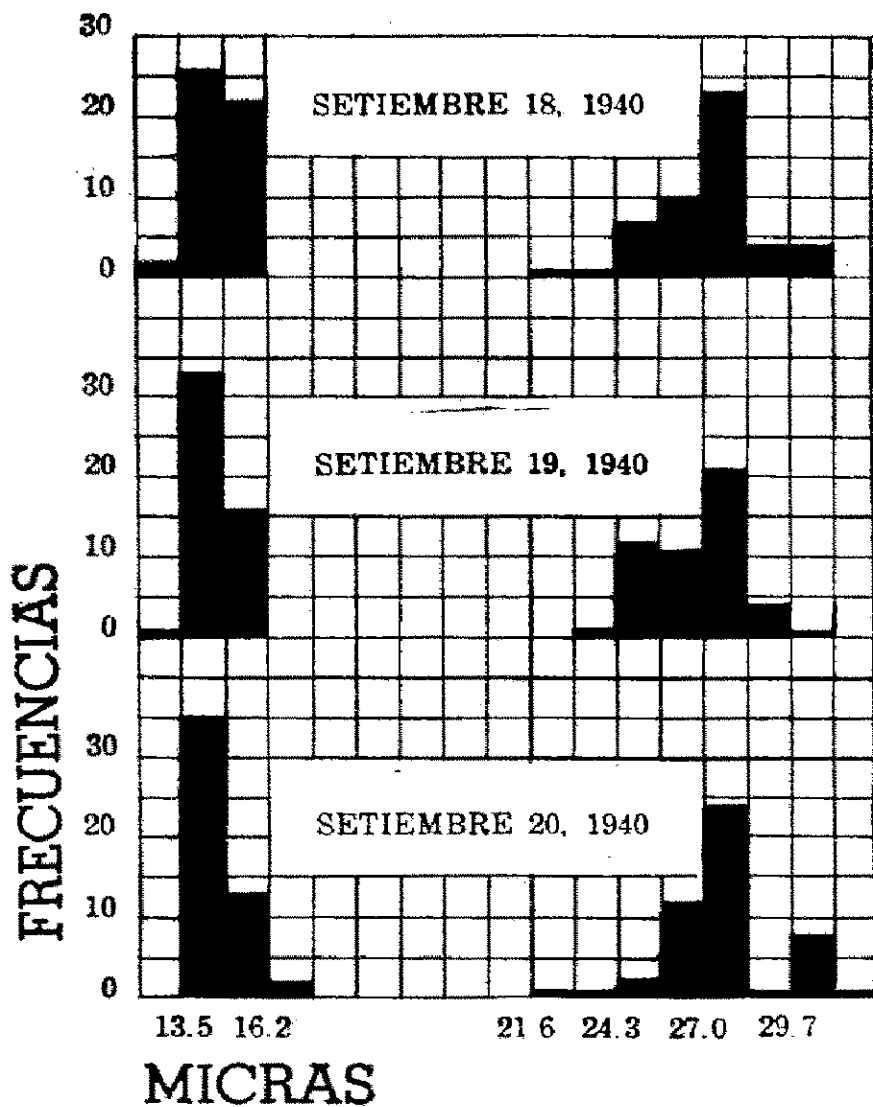


GRAFICA N° 3. — DATOS BIOMETRICOS DIARIOS

PHYLLOTIS 1598

Diámetro transversal

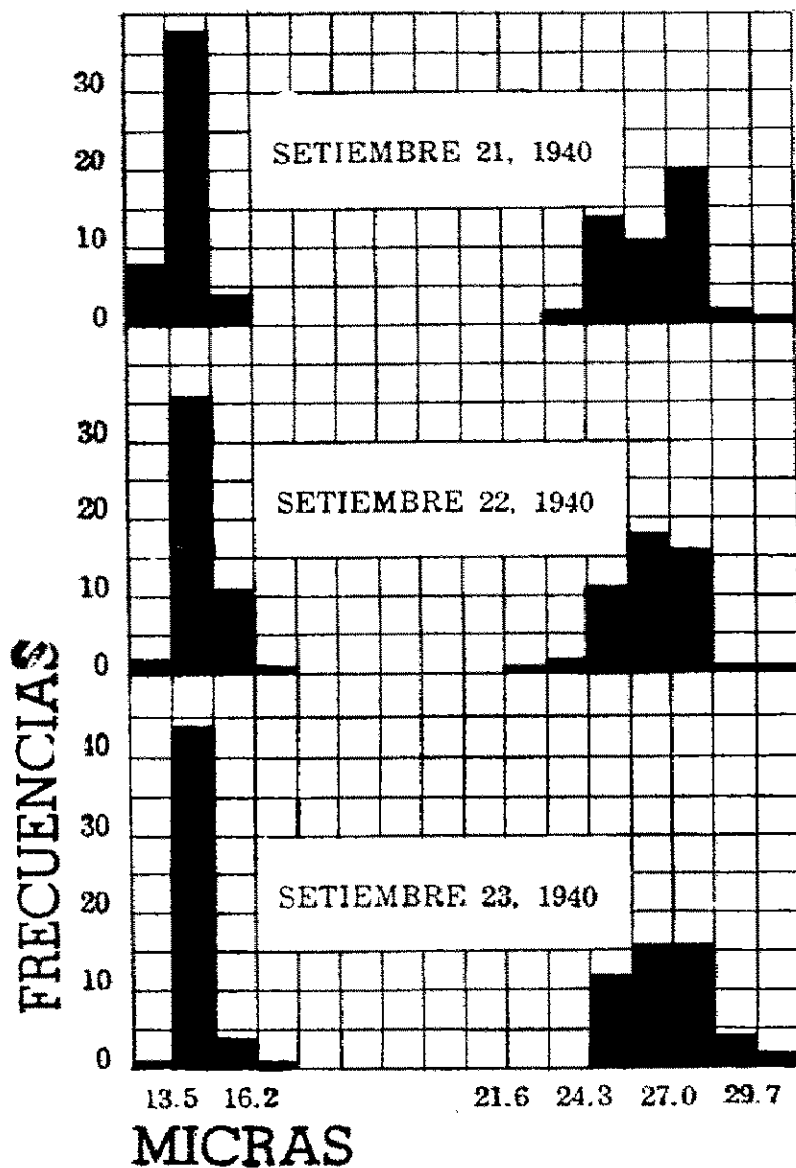
Diámetro longitudinal

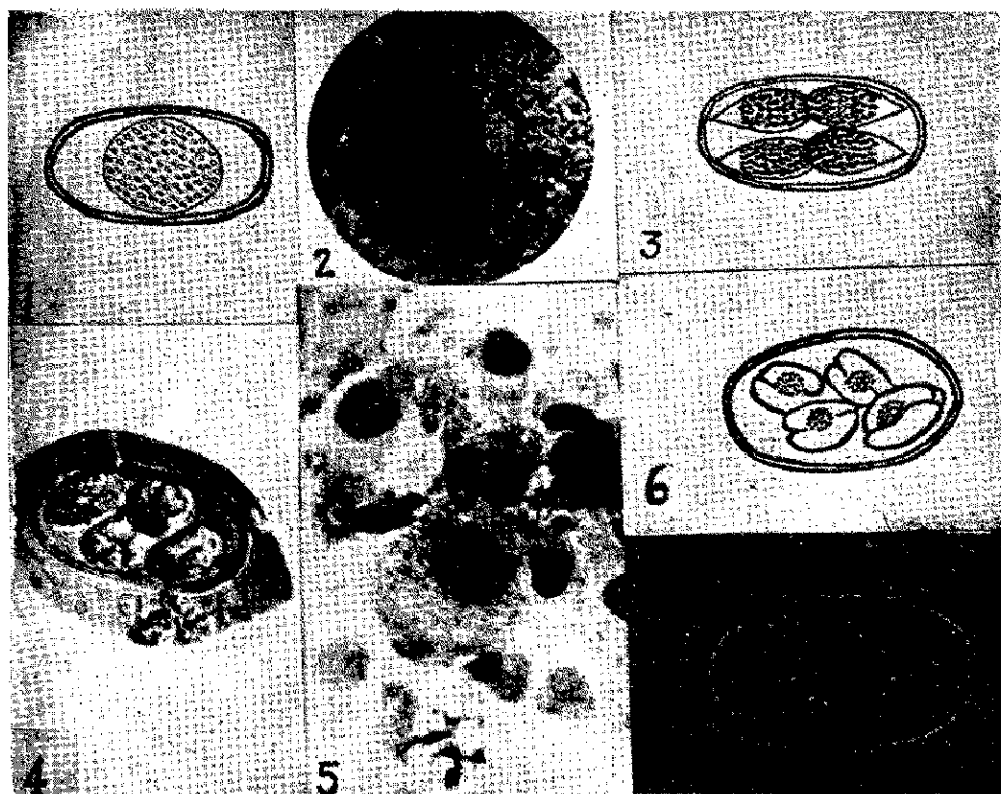


GRAFICA Nº 3 — (Continuación)

Diámetro transversal

Diámetro longitudinal





EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Las figuras 1, 3 y 6 son dibujos hechos con ayuda de la cámara lucida, de preparaciones en fresco 1000 X aprox. Las microfotografías 2 y 5 son estadios intracelulares obtenidos por raspados del intestino coloreados con Giemsa 1000 X aprox. Las microfotografías 4 y 7 son de preparaciones en fresco 1000 X y 1300 X respectivamente.

- Fig. 1.—Ooquiste inmaduro.
 Fig. 2.—Merozoitos.
 Fig. 3.—Ooquiste en vías de maduración.
 Fig. 4.—Ooquiste maduro.
 Fig. 5.—Microgametocito.
 Fig. 6.—Ooquiste maduro.
 Fig. 7.—Ooquiste inmaduro.