



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán"**

**" ESTUDIOS MORFOLOGICOS DE *Sarcocystis miescheriana*  
CON EL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO, EN 1985."**

# **T E S I S**

**Que para obtener el Titulo de  
"QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO"**

**p r e s e n t a**

**HECTOR COSS GARDUÑO**

**Cuautitlán Izcalli; Estado de México**

**1 9 8 5**





## **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.

**INDICE:**

	pag.
1. INTRODUCCION A LA BIOLOGIA DE <i>Sarcocystis miescheriana</i>	1
2. EQUIPO UTILIZADO	22
3. OBJETIVO	31
4. MATERIAL Y METODO	31
5. RESULTADOS	34
6. ANALISIS DE RESULTADOS	53
7. DISCUSION	55
8. CONCLUSIONES	56
9. BIBLIOGRAFIA	57

## I.- INTRODUCCION A LA BIOLOGIA DE *Sarcocystis miescheniana*.

### I.1.- CONSIDERACIONES GENERALES.

En 1843 Miescher observó, por primera vez, en el músculo del ratón, quistes conteniendo gran número de protozoarios en forma de plátano. Hasta 1882 esos quistes fueron llamados tubos de Miescher, y a los elementos internos cuerpos de Rainey o forospermas. En 1882 Balbiani propuso el nombre de *Sarcosporidia* para estos quistes, ya que se localizaban en el músculo. Sin embargo, la clasificación de los *Sarcosporidia* en el sistema animal era difícil ya que su ciclo de vida era desconocido. Con el advenimiento del microscopio electrónico fue posible observar y comparar las etapas del quiste de los *Sarcosporidia* con las de los esporozoarios, lo que condujo a sospechar que podría haber un ciclo de vida semejante a los coccidios en los sarcosporidios. Esta sospecha fue reafirmada y estimulada por el descubrimiento del ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*, el cual también forma quistes y tiene una estructura fina muy similar a la de *Sarcocystis*. La prueba final del parecido de los coccidios con los sarcosporidios se logró por una serie de transmisiones experimentales con quistes de ovinos, bovinos y cerdos, en los cuales se ha reportado alta prevalencia, así como en varias especies de animales salvajes (1).

Estos descubrimientos fueron confirmados por un buen número de investigadores en los años siguientes, pudiéndose encontrar los ciclos biológicos de otros sarcosporidios, así como de otros organismos relacionados: *Frenkelia* y *Besnoitia*.

Los coccidios se caracterizan por un ciclo de vida que comprende tres fases sucesivas diferentes. Una multiplicación asexual (esquizogonia = merogonia) seguida por una diferenciación sexual (gamogonia), ambas en las células hospedadoras, así como también la formación y fertilización del oocisto. Otra multiplicación asexual (esporogonia) ocurre dentro de la pared del oocisto, condu-

ciendo finalmente a la formación de esporocistos que contienen a los esporozoítos infecciosos (Fig I). El número de los esporocistos y esporozoítos formados dentro de cada oocisto es característico del género. Los hospedadores en los cuales se realiza el ciclo asexual son llamados hospedadores intermediarios, mientras que, en los que ocurre el desarrollo sexual son llamados hospedadores definitivos. En todas las especies de *Sarcocystis* estudiadas hasta ahora la alternancia de hospedadores es obligatoria, con lo que se aclara la importancia del carnivorismo en la transmisión. El ciclo de vida involucra dos hospedadores vertebrados; la presa (herbívoros) y el depredador (carnívoros), teniendo lugar en la presa (hospedador intermediario) la multiplicación asexual, mientras que la reproducción sexual del parásito está restringida al intestino del depredador (hospedador definitivo) (1).

Originalmente se pensaba que cada especie animal era parasitada como hospedador intermediario por una sola especie de sarcosporidio, por lo que los quistes vistos en los músculos fueron interpretados como etapas de desarrollo de un solo tipo de quiste. Por lo tanto a los quistes, morfológicamente diferentes, observados en un hospedador intermediario se les dió un nombre de especie común, por ejemplo *Sarcocystis tenella* en ovinos, *S. miescheniana* en cerdos y *S. fusiformis* en bovinos. Sin embargo, por experimentos recientes, se ha mostrado que diferentes especies de *Sarcocystis* pueden formar quistes en el mismo hospedador intermediario. Así se han encontrado tres quistes diferentes en bovinos, dos en ovinos, tres en cerdos, dos en ratas, dos en monos y al menos dos en ratón. Por lo tanto una nueva nomenclatura de los sarcosporidios ha sido propuesta por Heydorn y colegas (1975c) usando la combinación de hospedador final e intermediario como nombre de las nuevas especies (1,2).

En la actualidad se reportan en cerdos tres especies de *Sarcocystis*: *S. miescheniana* (Kuhn, 1865) Lankester 1882 con ciclo cerdo-perro (algunos lo reportan como *S. suicanis*, Erber, 1977) (3), *S. porcifelis*, Dubey, 1976 con un ciclo cerdo-gato, y *S. suihominis*, (Tadros y Laarman, 1976) con un ciclo cerdo-hombre (4).

## I.2.- CLASIFICACION.

*Sarcocystis* es un protozooario que pertenece al *Phylum Apicomplexa*, el cual se estableció basándose en los descubrimientos ultraestructurales de Levine (1970). Incluye a las clases *Sporozoea* y *Piroplasmae*. La principal característica de este grupo es la presencia de rasgos estructurales finos típicos, que han sido revelados por el microscopio electrónico. Se localizan principalmente en la región anterior de la célula y forman el llamado "Complejo Apical". Que esta formado por la cutícula, el anillo polar, microporos, conoide, micronemas y toxonemas. El descubrimiento de estos organelos y estructuras finas produjeron la creación del nuevo *Phylum*.

Por otro lado parecía necesario separar a los sarcosporidios del género *Isoospora* por lo que Heydorn *et al.* (1975) propuso la retención del nombre *Sarcocystis* para todos los sarcosporidios (5)

Por lo tanto tenemos la siguiente clasificación para *Sarcocystis miescheniana* (según Levine *et al.*, 1980) (6).

REINO:	Animalia
SUBREINO:	Protozoa
PHYLUM:	Apicomplexa
CLASE:	Sporozoea
SUBCLASE:	Coccidia
ORDEN:	Eucoccidia
SUBORDEN:	Eimeriina
FAMILIA:	Sarcocystidae
SUBFAMILIA:	Sarcocystinae
GENERO:	<i>Sarcocystis</i>
ESPECIE:	<i>miescheniana</i>

### 1.3.- CICLO BIOLÓGICO (Fig. 1)

#### a.- DESARROLLO DEL CICLO BIOLÓGICO EN EL HOSPEDADOR INTERMEDIARIO.

El desarrollo de *Sarcocystis* en un hospedador intermedio (esquizogonia = merogonia), que ha ingerido oocistos o esporocistos tiene dos fases diferentes: la primera fase es una esquizogonia proliferativa de transición, principalmente en las células endoteliales. Durante esta etapa los hospedadores intermedios se pueden morir por las toxinas producidas evidentemente por los merozoítos. Esta primera fase es seguida por la formación del quiste principalmente en las fibras musculares. El proceso completo que produce quistes con merozoítos listos para ser transmitidos al hospedador definitivo, se realiza en tres meses (Fig. 1) (1).

#### a.1.- ESQUIZOGONIA PROLIFERATIVA DE TRANSICION (EXTRAÍNTestinal).

La aparición de los parásitos después de la infección, está en función de la especie infectada; para los cerdos se ha observado en el noveno día. Hallándose gran número de merozoítos y esquizontes intracelulares. Estos parásitos se distribuyen en todos los tejidos del hospedador intermedio, principalmente en las células de vasos sanguíneos endoteliales o muy cerca a ellos. Hay evidencias claras de que además de la multiplicación por esquizogonia, la endodiogenia también ocurre. Aproximadamente un mes posterior a la infección (p.i.) los parásitos dejan el endotelio y se introducen en las células musculares, donde comienzan un nuevo desarrollo (Fig 1, 1.a, 1.b).

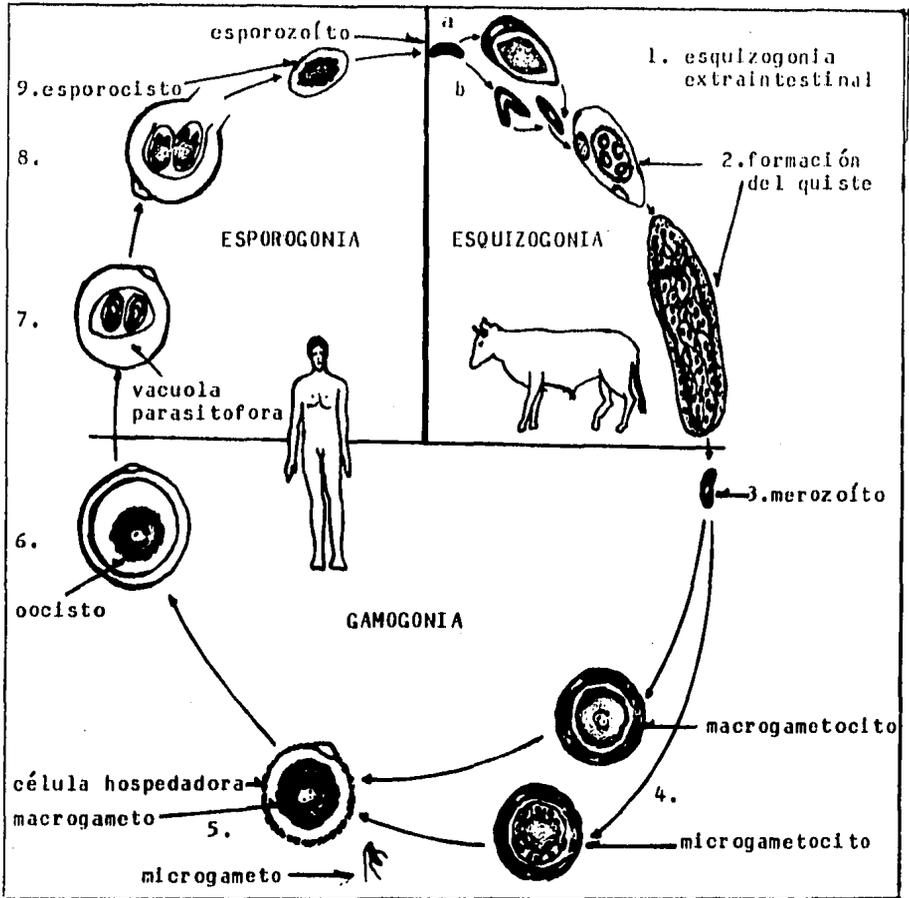


FIG 1. Ciclo de vida de *Sarcocystis bovihominis* parasitando al hombre y al bovino. Cuando son ingeridos por la presa, los esporozoítos inician una esquizogonia extraintestinal (1.1), en donde numerosos esquizontes (1.1.a) o estados de endodiogonia (1.1.b) se forman, principalmente en las células endoteliales. Cerca de un mes más tarde los merozoítos originados de la esquizogonia o endodiogonia dan origen a quistes en las fibras musculares. Estos quistes contienen finalmente (alrededor de tres meses p.i.) merozoítos, preparándose así, para la transmisión cuando los músculos sean ingeridos por el depredador (1.2). Los merozoítos (1.3) producen directamente estados sexuales (1.4, gametocitos), cuando penetran las células intestinales del depredador. Los parásitos se encuentran siempre dentro de una vacuola clara parasitofora en la célula hospedadora. Después de la fertilización (1.5) el cigoto erróneamente llamado oocisto) es rodeado por una pared. Los oocistos esporulan *in situ* en el tejido subepitelial (1.7) y son liberados en el lumen del intestino; gradualmente en las heces son liberados principalmente esporocistos (1.9) que han quedado fuera del frágil oocisto (1.5).

## a.2.- FORMACION DEL QUISTE (Figs. 1.2, 2, 3, 4).

Aproximadamente 40 días después de la ingestión de los esporocistos, los esquizontes y merozoítos libres han desaparecido completamente. De cualquier modo, el desarrollo del quiste se ve en las fibras musculares y células musculares sincitiales del veinti cincoavo al treintaavo día (p.i.) (Figs. 1.2, 2).

### a.2.1.- PARED DEL QUISTE (Figs. 3, 4).

Cuando un merozoíto ha penetrado a una fibra muscular, el quiste desarrolla una vacuola típica parasitofora. La orilla de esta vacuola es una membrana unitaria sencilla. Esta membrana pronto se fortalece por la formación de una capa de material osmiofílico debajo de ella. Este complejo forma la pared primaria del quiste (Figs. 3, 4).

Un rasgo característico de la pared primaria del quiste es la presencia de lugares sin engrosar, distribuidos irregularmente de 40 nm de diámetro aproximadamente, en los cuales se forman invaginaciones. La pared primaria del quiste se ha visto en todas las especies de *Sarcocystis* estudiadas por microscopía electrónica, así como, con pequeñas variaciones, en quistes de *Toxoplasma* y *Faenkelia*, alcanzando un grosor de 20 a 100 nm.

En algunas especies la pared primaria del quiste puede formar protuberancias características, las cuales son iguales en todos los quistes maduros de la misma especie, las protuberancias se toman como criterio para identificar o diferenciar las especies (Fig. 4). En las protuberancias se pueden formar o no (dependiendo de cada especie); fibras, túbulos o microtúbulos. Aunque la ultraestructura de la pared primaria del quiste es característica de cada especie, la morfología no puede ser usada como criterio absoluto de diferenciación de las especies, ya que se presenta en varias especies de *Sarcocystis* una pared quística similar. Por lo

tanto el valor de la pared primaria del quiste como criterio para la identificación de las especies es tan solo relativa, pero puede ser usada para diferenciar los quistes diferentes de ovinos, bovinos o ratones, después de infecciones con oocistos o esporocistos de diferentes hospedadores definitivos. Esto también indica que sólo los parásitos determinan la estructura de la pared primaria del quiste y sus elementos debajo de ésta, porque de lo contrario, todos los quistes en los músculos de los mismos hospedadores intermediarios serían idénticos. Durante el crecimiento se desarrolla una substancia basal amorfa debajo de la pared primaria del quiste. Esta substancia contiene gránulos pequeños y fibras finas que cruzan el interior del quiste para formar septos que se alinean en numerosos compartimientos que contienen a los parásitos. Estos septos pueden dar una gran estabilidad al quiste, el cual puede estar localizado aún en un músculo de gran actividad en el hospedador intermedario. La zona periférica de la substancia basal es considerablemente más gruesa en aquellas especies de *Sarcocystis* en las que no tienen o tan sólo tienen protuberancia muy cortas en la pared primaria del quiste (1, 5).

El desarrollo completo de los quistes de *Sarcocystis* se da en el interior de fibras musculares o células musculares sincitiales.

Considerando la morfología de los *Sarcocystis* de una gran variedad de hospedadores como se han descrito hasta la fecha y comparando con otros géneros formadores de quistes, como *Toxoplasma* y *Besnoitia*, se puede establecer que los quistes, están contruidos de acuerdo a un plan común aunque parasiten músculos enteramente diferentes. Por lo tanto en aquellas especies donde los ciclos de vida se desconocen se puede esperar un ciclo de vida similar. Por otro lado, estudios del desarrollo temprano del quiste han determinado que un quiste real (que se define según Laison - 1958- , como una estructura revestida, protectora o resistente, formada parcial o completamente de substancias del cuerpo del organismo, como distinción de la membrana limitante de los hospedadores), o una pared quística sólida como se observa en otros protozoarios, no se presentan típicamente en quistes musculares de

*Sarcocystis*. Así que se ha propuesto las siguientes definiciones para la formación del quiste de los coccidios.

**QUISTE.**- Vacuola parasitofora transformada en una célula del hospedador parasitado. La vacuola parasitofora o tan solo su periferia, se llena con una substancia basal granular de origen desconocido.

**PARED PRIMARIA DEL QUISTE.**- La orilla engrosada (membrana unitaria más material osmiofílica debajo de ella) de la vacuola parasitofora transformada, la cual puede dar elevación a las protuberancias características de las especies.

**PARED SECUNDARIA DEL QUISTE.**- Estructura de material fibrilar del hospedador la cual se origina con el englobamiento de la célula del hospedador parasitado. Hasta donde se conoce existe tan solo en *Besnoitia* y *S. tenella*. (Figs. 3, 4)

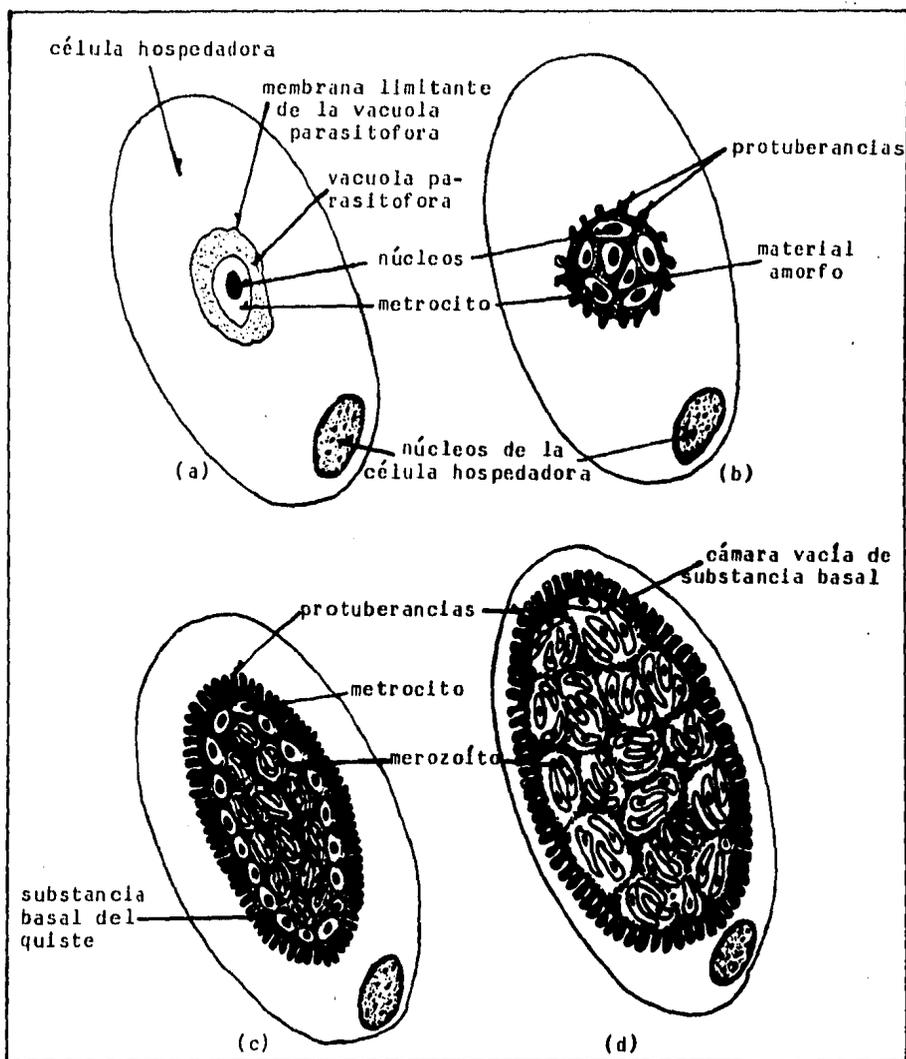


FIG 2. Representación esquemática del desarrollo de un quiste de *Sarcocystis* en una fibra muscular. El desarrollo comienza al mes de la infección (a) con la formación de una vacuola parasitofora y se termina dos meses más tarde, cuando la cámara vacía de substancia basal contiene a los merozoítos infecciosos (d). Aparte de las variaciones en las protuberancias características de la pared primaria del quiste, este esquema es característico de todas las especies de *Sarcocystis* (1).

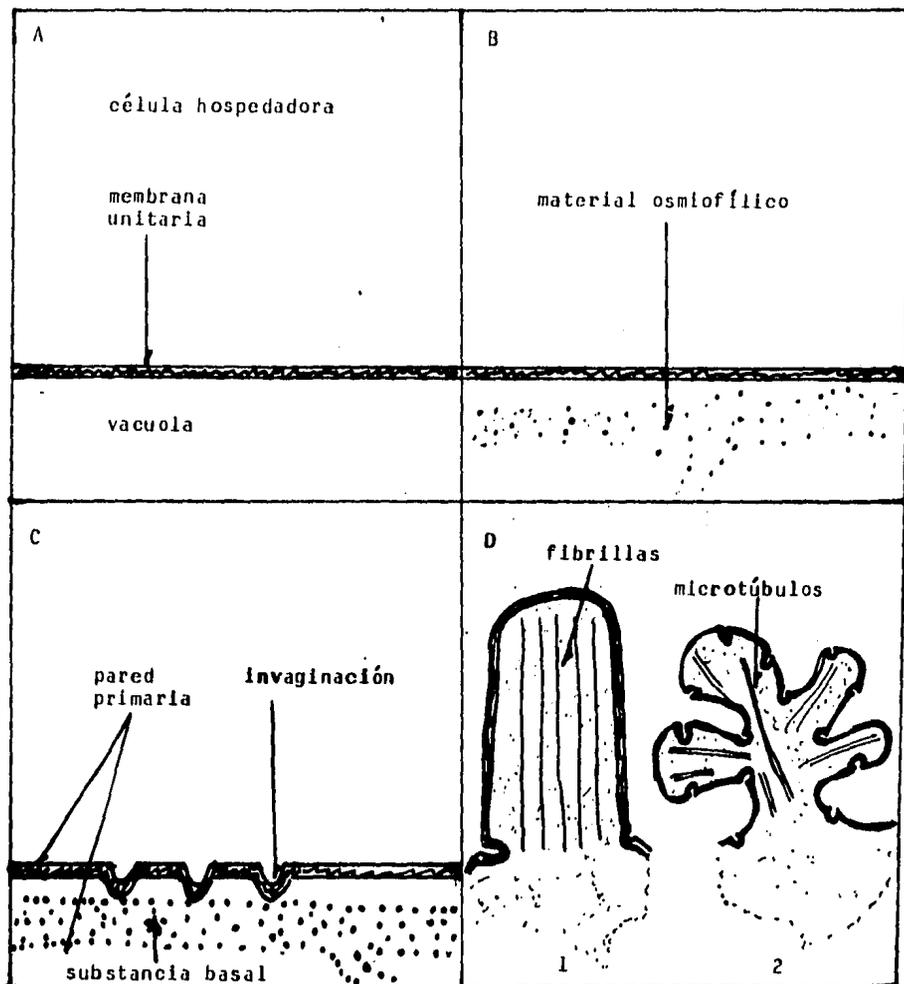


FIG. 3 Representación esquemática de el desarrollo de la pared primaria del quiste y la substancia basal fundamental del quiste. En los quistes maduros la pared primaria del quiste puede formar protuberancias o no (D 1= *S. lovihominis*; D 2= *S. tenella*) (1).

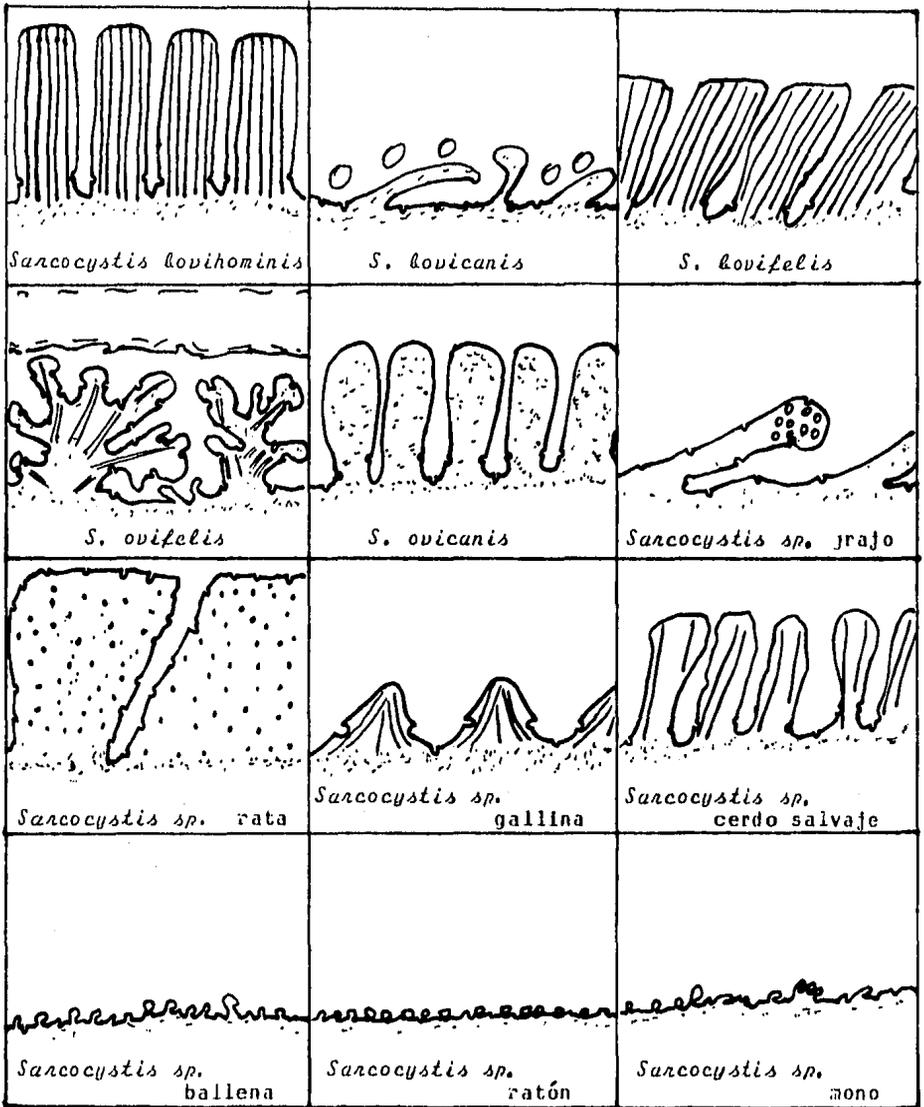


FIG.4 Representación esquemática de la diferenciación de la pa red primaria del quiste en algunas especies de *Sarcocystis* (1).

a.2.2.- PARASITOS (METROCITOS Y MEROZOITOS) (Figs. 5, 6).

En los quistes de *Sarcocystis* aparecen siempre dos formas: a)- células globulares llamadas metrocitos (Fig. 5) que son escasos y b) merozoítos (Fig. 6) que tienen forma de plátano que son más frecuentes. El término metrocítico, caracteriza un merozoíto especial en quistes jóvenes. En este estado, en el cual es globular, es mucho menos diferenciado que el merozoíto maduro, y se reproduce muy frecuentemente por endodiogenia, por lo que fue llamado cé lula madre (metrocito) por SÉnaud (1967). Al comienzo de la forma ción del quiste sólo se han encontrado metrocitos dentro de los quistes. Alrededor de los dos meses (p.i.) los quistes contenían ambos, metrocitos y merozoítos, y cerca de los tres meses (p.i.), sólo muy pocos metrocitos se ven. En esta etapa la cámara que esta llena de merozoítos grandes parece vacía de substancia basal. De esto se puede concluir, que tres meses después de la introducción de los esporocistos al hospedador intermediario, los quistes están completamente diferenciados y listos para renovar su transmisión. Así en varios experimentos de transmisión la infectividad se nota sólo cuando se utilizan los quistes viejos (1, 5).

### a.2.3.- ESTRUCTURAS FINAS DE METROCITOS (Fig. 5).

Los metrocitos de *Sarcocystis* son células globulares de diferente longitud que están estructurados de acuerdo a un plan común. Están limitados por una cutícula típica de coccidia de tres capas, que consiste de tres membranas unitarias. En los metrocitos pequeños frecuentemente la superficie está un poco ondulada, mientras que en los metrocitos más grandes de otras especies, ocurren profundas Invaginaciones de la cutícula. A lo largo de la superficie se ven varios microporos y pequeños citostomas. En el polo apical se observa, un conoide, un anillo polar, y un Complejo de Golgi anterior a los núcleos. Los toxonemas y micronemas rara vez se encuentran. Los núcleos tienen nucléolos esféricos que consisten de zonas granulares y fibrilares. Las estructuras cromosomales se ven dos estados diferentes: placas de densidad grande (estado condensado) y gránulos de pequeña densidad de 30 a 40 nm de diámetro, arreglados esféricamente en el carloplasma. Los poros nucleares muestran la simetría de ocho dobles conocida en otros protozoarios y numerosos metazoarios. El citoplasma aparece muy claro a los electrones y en algunos casos extremadamente vacuolado. Por endodigenia dos células hijas se forman en estos metrocitos (Fig. 1, 1b). Se desarrollan racimos de estos estados, tendiendo a estar demasiado juntos, frecuentemente con bordes celulares ondulados. Después de varias endodigenias, las células desarrolladas se van haciendo progresivamente similares a la forma posterior de plátano. Durante la endodigenia los microtúbulos subcuticulares están arreglados inicialmente, alrededor de cada polo de los núcleos en división. Después el retículo endoplásmico forma las dos membranas internas de la cutícula, que incluye, conoide, dos centriolos y dos vacuolas grandes con interior granular (= precursor de los toxonemas y de los micronemas) (1).

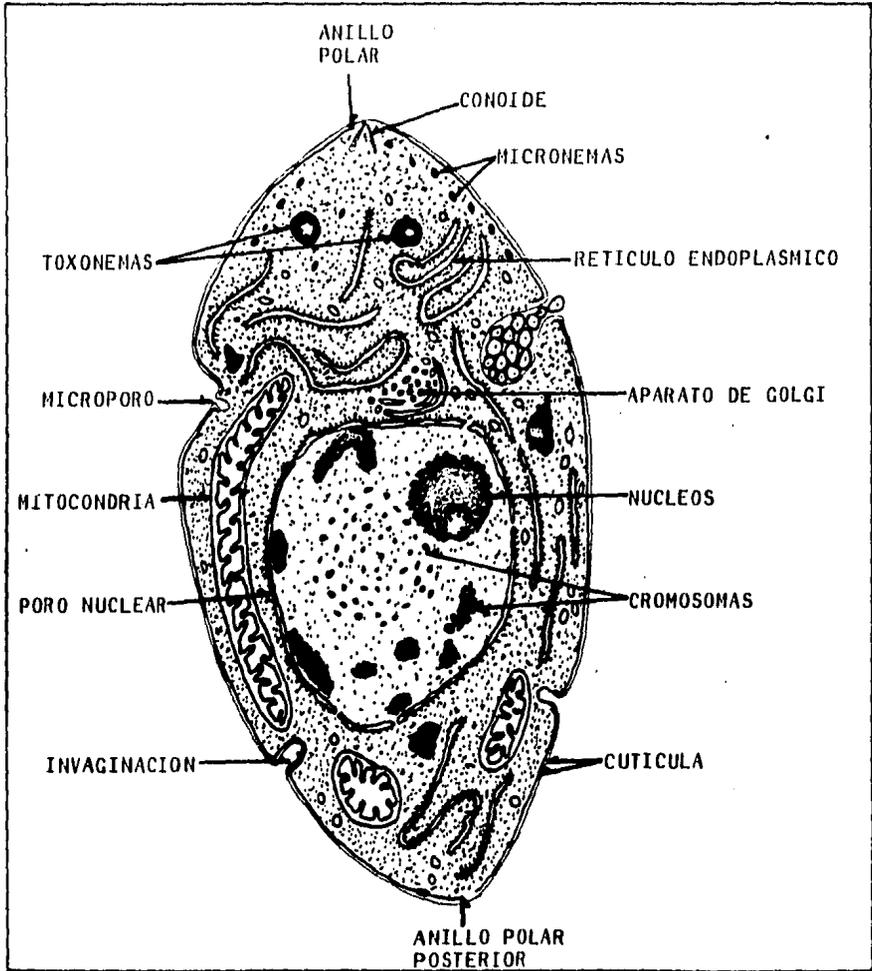


FIG. 5 Representación esquemática de un metrocito (*S. lovicanis*) (1).

#### a.2.4.- ESTRUCTURAS FINAS DE LOS MEROZOITOS (Fig. 6).

Los merozoítos de *Sarcocystis* varían considerablemente en tamaño, pero en estructura son relativamente uniformes, como se ha observado hasta ahora por el microscopio electrónico. Sin embargo no parece notoria la diferenciación de las especies considerando sólo la estructura fina o el tamaño.

Los merozoítos de *Klossia* poseen la estructura fina principal de los esporozoarios. Se observan hasta 15 toxonemas con contenido granular. Sólo sus canales que se extienden dentro del área conoidal son osmiofilicamente homogéneos. Alrededor de 70 microtúbulos los cuticulares recorren anterior y posteriormente hasta el núcleo, dentro de la cutícula trimembranal.

Las diferencias estructurales finas de los coccidios que forman quistes, son suficientes y forman una base para su identificación taxonómica. *Sarcocystis* y *Frenkelia* contienen un tipo especial de merozoítos, los metrocitos que son ovoides y poseen invaginaciones profundas que les da una apariencia peculiar a las células. *Sarcocystis* posee abundantes micronemas y hasta 11 o más toxonemas. *Frenkelia* sp. posee de 50 a 70 micronemas en los merozoítos y se presentan de 5 a 8 toxonemas. *B. jellisoni* tiene de 80 a 100 micronemas, y de 3 a 5 toxonemas. *Toxoplasma gondii* y *Hammondia* presentan los merozoítos más pequeños de los coccidios y el número de micronemas no es alto (1).

#### a.2.5.- ESTRUCTURAS CARACTERISTICAS DE MEROZOITOS (Fig. 6).

##### CUTICULA (Fig. 6.1).

La membrana celular del estado móvil (esporozoíto, merozoíto) consiste de un plasmalema y una capa membranosa interna, que esta compuesta de dos unidades membranales, normalmente unidas estrechamente una a la otra. La unidad membranal externa y la capa membranosa interna estan separadas por un espacio intermedio claro a los electrones de 15 a 20 nm de diámetro. El plasmalema es continuo y encierra a toda la célula, mientras que el complejo membranoso interno finaliza cerca del extremo anterior del anillo polar. La capa membranosa interna de la cutícula se origina del retículo endoplásmico.

##### MICROTUBULOS SUBCUTICULARES (Fig. 6.2).

En muchos estados del ciclo de vida de los protozoarios miembros del *Phylum Apicomplexa*, los microtúbulos cuticulares estan presentes por abajo de la membrana celular. En los esporozoítos y merozoítos estan distribuidos regularmente alrededor de la periferia, localizándose del extremo anterior a la región nuclear. El número de microtúbulos cuticulares es específico a género o especie. Ya que los microtúbulos estan presentes en el estado móvil, su función puede estar relacionado con la motilidad celular.

##### ANILLOS POLARES (Fig. 6.3).

El anillo polar, un engrosamiento osmiofílico, esta formado por la capa membranosa interna de la cutícula. Normalmente hay sólo un anillo polar presente. Sin embargo, han sido observados dos o tres de estas estructuras en algunos géneros. La función de los anillos polares es aún desconocida. El empaque osmiofílico circular puede servir como una estructura de soporte alrededor de la capa membranosa interna de la cutícula en la abertura del extremo anterior de la célula. Probablemente jueguen un papel en el movimiento del conoide. Algunas observaciones indican que el anillo polar es una estructura a la cual están unidos los microtúbulos.

Existe un anillo polar posterior en merozoítos jóvenes. Esta estructura está colocada donde la célula hija ha sido separada de la célula madre durante la reproducción asexual.

#### MICROPORO (Fig. 6.4)

El microporo es un organelo formado por la cutícula en sección longitudinal, consiste de una invaginación punteada de la unidad membranal externa y la capa membranosa interna. La membrana externa continúa sin interrupción a través de la invaginación, donde el complejo membranoso interno forma un empaque estructural cilíndrico que rodea la invaginación. En sección transversal el microporo está compuesto de dos anillos concéntricos. El anillo externo es más denso que el interno y representa la estructura cilíndrica de la capa membranosa interna. El anillo interno coincide con la invaginación del plasmalema. El microporo funciona como un organelo alimentador.

#### CONOIDE (Fig. 6.5)

Este organelo consiste de un cono hueco truncado de estructura fibrilar arreglada espiralmente. En muchas especies dos anillos preconoidal o conoidales han sido descritos, anterior al cono. En algunos casos el conoide y los anillos preconoidales parecen estar cubiertos por una membrana similar a una cúpula que en ocasiones muestra una abertura.

Existen muchas hipótesis y teorías acerca de la función del conoide, sin embargo, la prueba definitiva no ha sido obtenida por el microscopio electrónico. El conoide probablemente funciona como un organelo de penetración a las células hospedadoras. El mecanismo exacto de penetración es desconocido. La proyección del conoide puede posiblemente ayudar en la penetración.

El origen del conoide es desconocido. Hay proposiciones de que este organelo puede originarse de un centríolo. El conoide no está presente en los hemosporidios y los piroplasmios.

#### MICRONEMAS (Fig. 6.6).

Los micronemas son estructuras osmiofílicas pequeñas, presentes principalmente en casi toda la región anterior de los esporozoítos y merozoítos de los *Apicomplexa*. La función de los micronemas es desconocida. Algunos autores sugieren una función secretora, y otros indican que los micronemas y toxonemas pertenecen a un sistema funcional común.

#### TOXONEMAS (Fig. 6.7).

Los toxonemas son densos a los electrones, tienen forma de basto y se localizan en la región anterior de los esporozoítos y merozoítos de diversos *Apicomplexa*. La porción anterior del cuello de los organelos son estrechos y se extienden dentro del área conoidal. La región posterior en forma de basto, parece surgir de una parte posterior osmiofílicamente densa y homogénea. La función de los toxonemas es desconocida, sin embargo, hay algunas indicaciones de que se asemeja a una glándula, y que puede secretar una enzima proteolítica que auxilie a la función del conoide. La porción estrecha puede servir como canal secretor.

#### ORGANELOS ADICIONALES (Fig. 6.8).

Un mitocondrion de estructura tubular se extiende dentro del citoplasma. En algunos casos se ramifica o forma una "Y" con un límite estructurado normalmente. Un aparato de Golgi anterior al núcleo constituido por diversas estructuras laminares y vesiculares. La presencia de un retículo endoplásmico rugoso está indicado por la presencia de ribosomas arreglados cerca de otros en dos líneas paralelas. Numerosos gránulos ovoides y pálidos a los electrones parecen concentrarse en la región celular posterior (5).

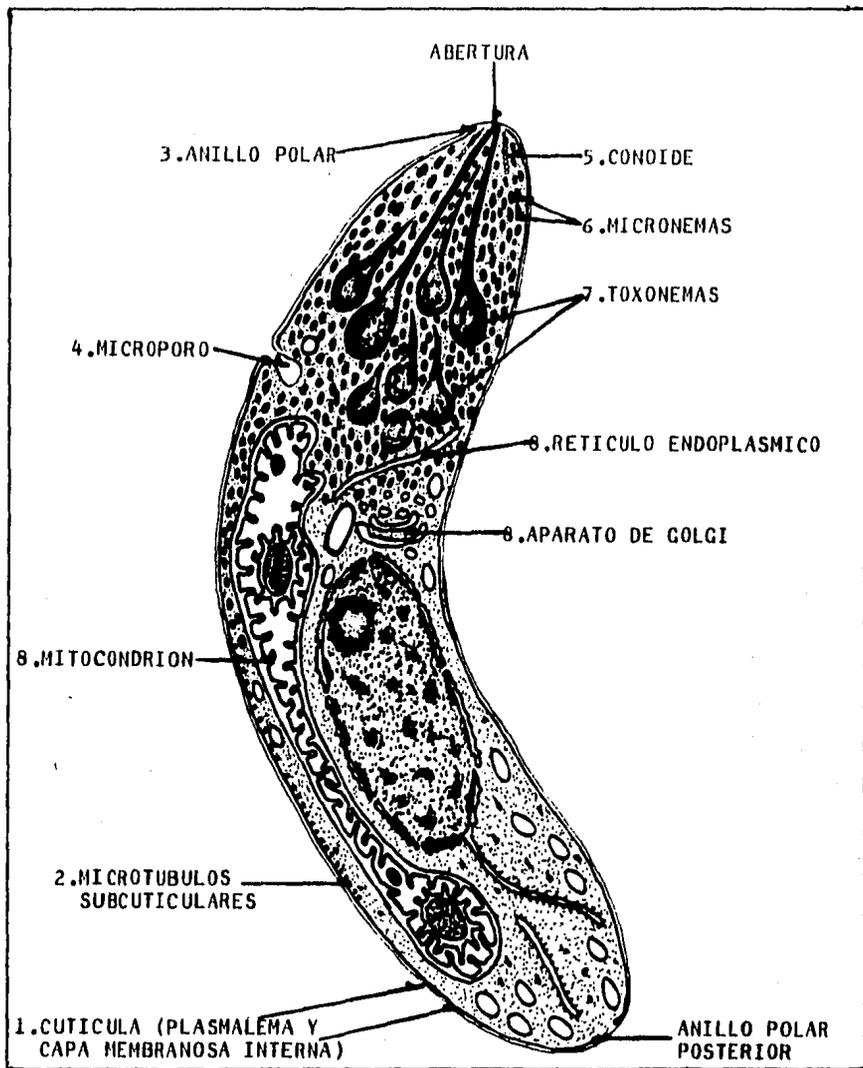


FIG. 6. Representación esquemática de un merozoíto de un quiste (*Sarcocystis tenella*) (1).

## b.- DESARROLLO DEL CICLO BIOLÓGICO EN EL HOSPEDADOR DEFINITIVO.

Varias especies de *Sarcocystis* pueden tener más de un hospedador definitivo. En los hospedadores definitivos, la esquizogonia no ocurre dentro de la musculatura.

### b.1.- GAMOGONIA (Fig. 1.3-6).

Aproximadamente un mes después de la infección, los gametos se ven en las células del intestino del hospedador definitivo, encontrándose dentro de una vacuola parasitófora clara a los electrones. Así como en otros coccidios, la gamogonia de *Sarcocystis* se da como oogamia. Por lo tanto el núcleo de los gametocitos femeninos en crecimiento no hacen posteriores divisiones y los gametos maduros semejantes a las células de los metazoarios, son llamados entonces macrogametos. En el gametocito masculino, existe primeramente una fase de divisiones mitóticas nucleares, y posteriormente la formación verdadera de pequeños gametos (microgametos). Los microgametocitos y los microgametos se han visto en las especies de *Sarcocystis* sólo por medio del microscopio electrónico. Por otro lado, los macrogametos son extremadamente numerosos. Los microgametos consisten de un núcleo elongado, un mitocondrion tubular, dos flagelos libres y varios microtúbulos adicionales bajo la membrana unitaria (1).

### b.2.- ESPOROGONIA (Fig. 1.7-9).

En todos los *Sarcocystis* estudiados, la esporulación se lleva a cabo en la célula intestinal parasitada del hospedador definitivo.

La primera división de esporulación da lugar a un oocisto con dos núcleos basófilos muy densos en polos opuestos del citoplasma. Estos núcleos que parecen dividirse van acompañados de la fisión de la masa citoplasmática en dos porciones. El resultado es la aparición de los progenitores de esporocistos, cada uno con dos núcleos polares en forma de "u". Esta segunda división nuclear

va seguida de una tercera división y por la separación del citoplasma de los esporocistos. Finalmente se presenta en cada esporocisto cuatro esporozoítos y un cuerpo residual de constitución granular. Los oocistos no esporulados como los esporulados se encuentran siempre, incluidos en una gran vacuola parasitofora clara a los electrones. En este momento la célula hospedadora consiste tan solo de dos membranas remanentes: la membrana citoplásmica exterior y la membrana limitante de la vacuola parasitofora. Los oocistos de *Sarcocystis* no tienen micrópilo, y la ausencia de éste y un cuerpo de Stiedda es un rasgo característico de estos esporocistos.

Excepto por su tamaño, los oocistos y esporocistos de los *Sarcocystis* son muy similares, tal que no pueden ser distinguidos cuando varias especies están presentes en las heces del hospedador definitivo. No obstante muestran alguna virulencia diferente. Varias especies (perro-ovino; perro-bovino) pueden causar infecciones agudas en hospedadores intermediarios, aún con resultados fatales, mientras que en otras especies (hombre-bovino) no se presentan, aún en altas dosis. De cualquier modo, estudios recientes en *S. suihominis* por Heydorn (1977) y Mehlhorn y Heydorn (1977) han mostrado que el hospedador definitivo (hombre) también puede sufrir de sarcoporiidiosis, todos los voluntarios que comieron carne de cerdo desarrollaron diarrea hemorrágica severa. Los efectos a largo plazo de las infecciones crónicas, aún no están bien estudiadas, por lo tanto, los *Sarcocystis* han tomado una nueva importancia humana (1, 9, 11, 13).

## 2.- EQUIPO UTILIZADO.

### 2.1.- MICROSCOPIO ELECTRONICO (Figs. 7, 8, 9, 10).

#### GENERALIDADES.

Nuestro ojo, el más simple de los sistemas ópticos, forma en la retina una imagen del mundo exterior.

El microscopio es un instrumento que permite obtener una imagen aumentada del objeto. El límite resultante en la capacidad de un microscopio se caracteriza mediante el poder de resolución: que es la mínima distancia que separa dos puntos del objeto de tal modo que sus imágenes sigan siendo distintas. Este poder de resolución es proporcional a la longitud de onda de la radiación electromagnética utilizada para formar la imagen (15).

En el caso del microscopio óptico, la tecnología de tales instrumentos ha evolucionado de tal forma que prácticamente, se ha alcanzado el límite de resolución teórico, impuesto por la longitud de onda de la luz. Hasta aquí hubiesen llegado nuestras aspiraciones por ver más, si no hubiera ocurrido la asombrosa explosión de genio que contempló el nacimiento del siglo XX, en el terreno de la física (16).

Planck y Einstein atribuyeron a la luz un carácter corpuscular, mientras que De Broglie estableció en 1924 la dualidad onda-partícula.

Al poder asociar a las partículas una longitud de onda, el poder de resolución de un aparato que usa partículas en vez de luz, aumenta por varias órdenes de magnitud.

Todo corpúsculo, caracterizado por su masa y su velocidad, tiene una onda asociada, cuya longitud depende de estas dos magnitudes. Eligiendo adecuadamente la masa, es decir la velocidad, es

posible controlar la longitud de onda asociada. De entre todas las partículas disponibles actualmente (Cuadro 1) los electrones son los mejores candidatos: fáciles de obtener por calentamiento de una punta metálica al vacío, son fácilmente acelerados por un campo electrostático, y su carga negativa intrínseca hace que puedan ser desviados y por lo tanto focalizados por campos electrostáticos o magnéticos.(17).

El inicio del desarrollo práctico del microscopio electrónico, lo marcaron en 1927 los experimentos de Davison y Germer sobre la difracción de electrones; posteriormente se desarrolló la óptica electrónica, hasta que en 1938, el primer microscopio electrónico con lentes magnéticas fue realizado por Ruska. A partir de entonces, varias firmas comerciales se han encargado de desarrollar este aparato como instrumento científico. Actualmente, el microscopio electrónico es familiar a la mayoría de los investigadores dedicados a las ciencias físicas y biológicas (18).

Hay dos posibles maneras de formar una imagen con el microscopio electrónico: una consiste en enfocar el haz sobre un área muy reducida de la muestra y barrer su superficie, moviendo el haz y detectar en cada zona una intensidad promedio; esto es lo que se llama microscopía electrónica de barrido (MEB). La otra consiste en iluminar un área relativamente grande de la muestra con un haz fijo y adoptar un sistema electro-óptico para la amplificación de la imagen; esto es lo que se conoce como microscopía electrónica de transmisión (MET) (16).

PARTICULAS UTILIZABLES PARA FORMAR UNA IMAGEN.				
naturaleza	longitud de onda (Å)	energía cinética	recorrido libre medio	resolución práctica
fotones	4000-7000	2 eV	variable	0.5 μm
rayos X	0.05-12.5	25-1 keV	100 μm	1 μm (topografía)
electrones	$1-3 \times 10^{-2}$	100-1000 keV	0.1-1 μm	2 Å
protones	$3 \times 10^{-3}$	10-100 keV	0.01-0.1 μm	10-100 Å
neutrones	1.5	0.025 eV	1 mm	1 μm (topografía)
iones	$10^{-3}$	10 keV	$10^{-3}$ μm	1 Å (microscopio de emisión de campo)

CUADRO 1. Las diferentes partículas utilizables para formar una imagen, permiten explorar escalas muy diversas desde una μm hasta algunos Angströms. La resolución así obtenida depende sobre todo de la longitud de onda, pero también de la facilidad con la que es posible hacer un lente y corregir sus aberraciones. El recorrido libre medio de las partículas da el orden de magnitud del grosor de las muestras observables por transparencia (15).

## MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO (MEB).

El MEB elabora una reproducción vívida, semejante a una tercera dimensión de la superficie del espécimen por encima de un amplio rango de magnificaciones. Las micrograffa del barrido electrónico son insuperables en belleza y detalles topográficos. Se pueden estudiar superficies externas e internas del espécimen. Además los accesorios adicionales hacen posible estudiar la composición del mismo (19).

## PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DEL MEB.

El principio del MEB es que un haz estrecho de electrones es producido en un cañón de electrones en un extremo de la columna donde se ha hecho previamente el vacío: y después se enfoca como un punto, lo más pequeño posible sobre la superficie de la muestra, que esta colocada en el extremo lejano de la columna. A lo largo de este recorrido, el haz electrónico pasa a través de diversos lentes electromagnéticos y bobinas deflectoras, con las cuales enfoca y rastrea. Estas lentes son diseñadas y energizadas de tal manera que el haz que reciben se convierte en un haz electrónico extremadamente pequeño. El haz barre la superficie de la muestra repetidamente y forma un rastreo como se ve en la televisión.

Mientras se barre, el haz electrónico golpea los electrones externos de la superficie de la muestra. Estos electrones secundarios son arrastrados por un colector y llevados a un amplificador. La salida del amplificador determina el potencial del electrodo modulante de un tubo de rayos catódicos (TRC). La corriente es transformada eléctricamente en una señal voltaica. El generador que opera las bobinas rastreadoras es también conectada a las placas deflectoras de un TRC. La señal voltaica es empleada para modular la brillantez del punto en el TRC en sincronización con el movimiento del haz electrónico. Esencialmente la brillantez del punto es controlada por la corriente que llega al colector.

Los electrones secundarios que surgen de cada punto de la superficie de la muestra son característicos de la superficie en tal punto. Dicho de otro modo, la corriente recibida de cualquier punto es determinada por las características superficiales. Cualquier cambio en la composición, textura o topografía en el punto donde los electrones chocan con la superficie, afectan, produciendo variaciones en la corriente electrónica que llega al colector y, a su vez, a la brillantez en el punto del TRC. La imagen es por lo tanto, una disposición de las señales recibidas en sus posiciones relativas correctas, y es una fotografía de la superficie de la muestra. La imagen es hecha punto por punto y no todos al mismo tiempo, como en el MET. El tamaño del barrido de la superficie de la muestra es considerablemente más pequeño que el tamaño de la superficie del TRC. La fotografía final es una imagen amplificada de la muestra (16, 19).

#### ESPECIFICACIONES DEL MEB UTILIZADO:

MODELO: JEOL JSM-25SII SCANNING MICROSCOPE (20).

#### 2.2. MICROTOMO

MODELO: 820 SPENCER MICROTOME.

#### 2.3. HISTOKINETTE (DESHIDRATADOR E IMPREGNADOR DE PARAFINA).

MODELO: WAX BATH TYPE E 7606.

#### 2.4. DESHIDRATADOR A PUNTO CRITICO.

MODELO: CRITICAL POINT APPARATUS II.

TECHNICS SPRINGFIELD VIRGINIA.

#### 2.5. EVAPORADORA.

MODELO: FINE COAT ION SPUTTER JFC-1100 (21)

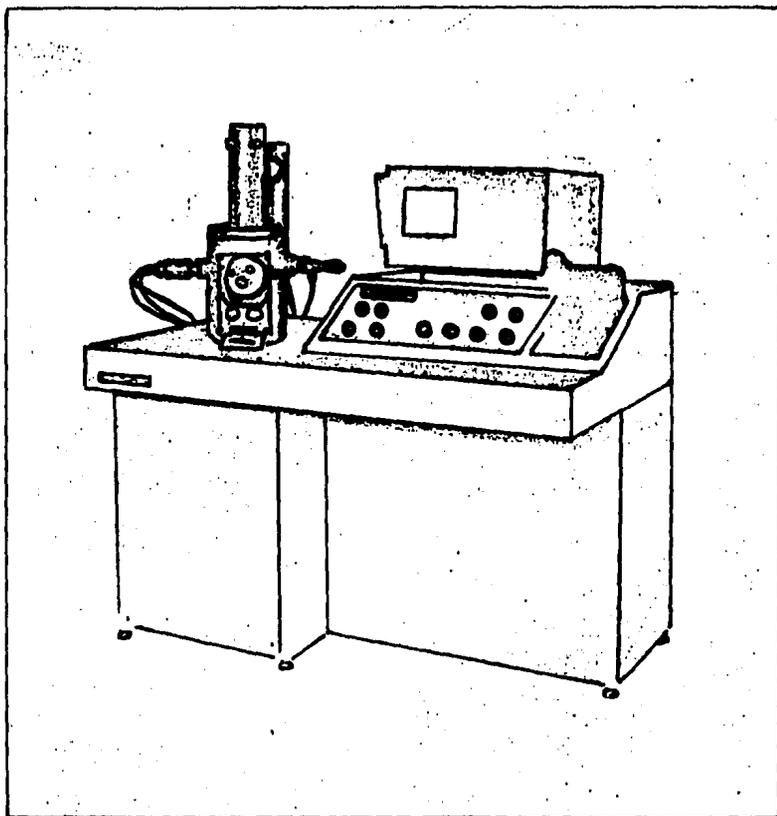


FIG. 7. MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO JSM-25SII/III (20).

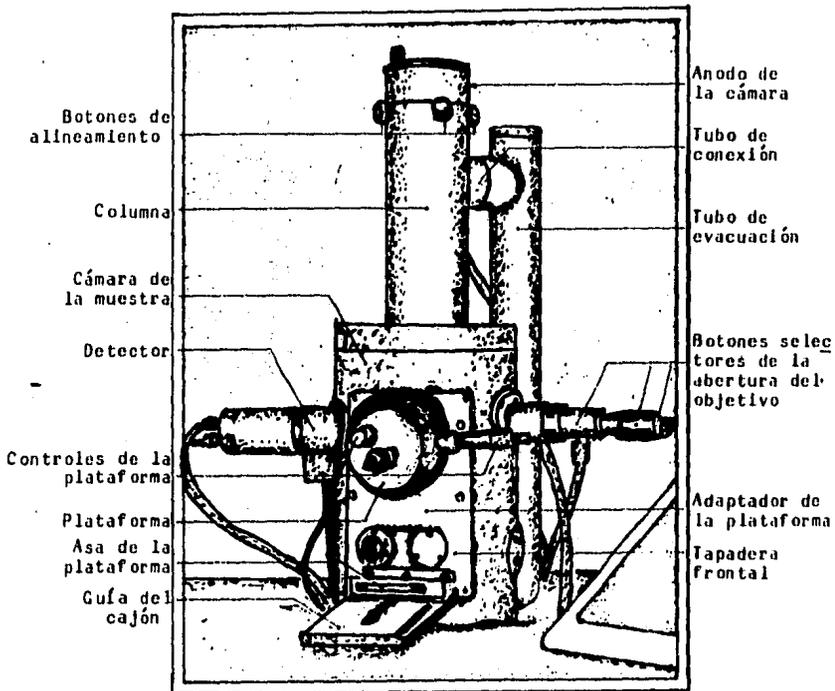
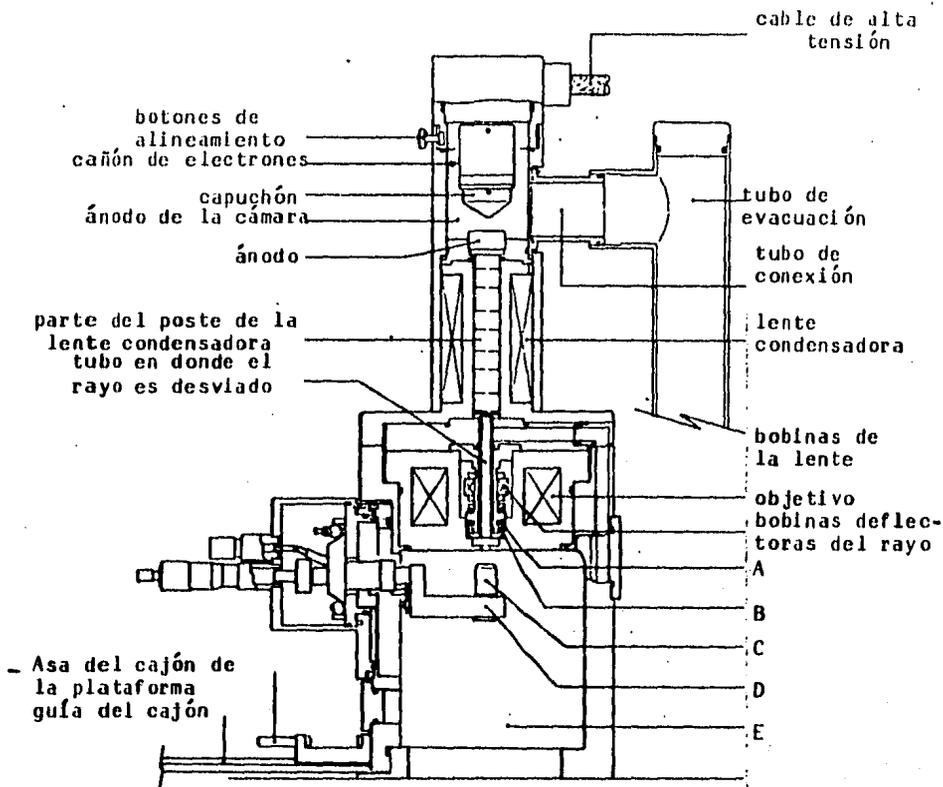


FIG. 8. Vista externa de la columna del HEB (25sII) (20).



- A:** Bobinas estigmadoras
- B:** Bobinas auxiliares
- C:** Sostén de las muestras
- D:** Plataforma de la muestra
- E:** Cámara de la muestra

**FIG. 9.** Corte transversal de la columna del MEB (25SII) (20).

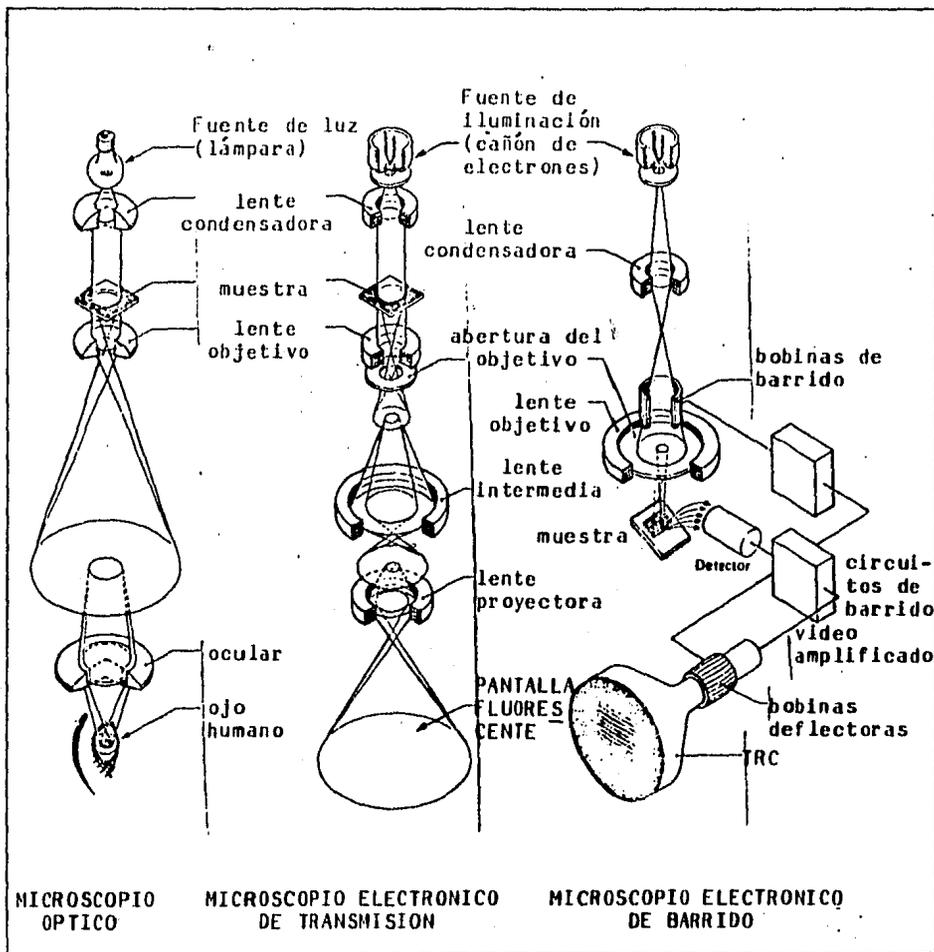


FIG. 10. Formación de la imagen, en tres microscopios diferentes: microscopio óptico, MET, MEB (20).

### 3. OBJETIVO.

Proporcionar información básica de la morfología del quiste de *Sarcocystis miescheniana*, así como de las formas presentes en su interior, usando el microscopio electrónico de barrido.

### 4. MATERIAL Y METODO.

#### RECOLECCION DEL PARASITO DEL CERDO (HOSPEDADOR INTERMEDIARIO).

Para recolectar al parásito se tomaron muestras de tejido muscular del corazón de cerdos, los cuales eran de diferentes procedencia: de rastros o de animales criados en forma casera.

#### TOMA DE LA MUESTRA Y FIJACION.

Al poco tiempo de haber sacrificado al cerdo, se hacen cortes de tejido muscular cardiaco de 1 cm<sup>3</sup> aproximadamente, los que posteriormente se vierten en una solución de formol al 10 %, de tal manera que haya una parte de tejido muscular por nueve de solución. Esto se hace con el propósito de fijar las estructuras del tejido y evitar cambios postmórtem.

#### DESHIDRATACION E INFILTRACION DE PARAFINA.

Se hace en el Histokinette de manera convencional durante 22 horas (22).

#### 4.1. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA OBSERVACION AL MICROSCOPIO OPTICO.

##### CORTE

Se utiliza el microtomo para órganos incluidos en parafina. Con el cual se hacen cortes de hasta 4 µm de espesor.

## TINCIÓN.

Se usó la técnica de Hematoxilina-Eosina (22).

## OBSERVACION AL MICROSCOPIO OPTICO.

Se observó un quiste en corte transversal.

## 4.2. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA EL MEB.

Ya que se detectó por medio del microscopio óptico el quiste del parásito, se procede a extraer la parafina que tiene adherida la muestra, teniendo cuidado de que durante el proceso no se contraigan las estructuras del tejido.

## DESPARAFINAR E HIDRATAR.

Se hizo de acuerdo a la técnica usual (22).

## DESHIDRATACION.

Se hacen tres pasadas en alcohol absoluto de 30 minutos cada una, dos en alcohol-acetato de amilo durante 30 minutos cada una y una en acetato de amilo absoluto el mismo tiempo. La deshidratación total se hace a punto crítico (23).

## REPLICA (RECUBRIMIENTO CON ORO).

Ya deshidratada la muestra se lleva a la cámara de la evaporadora donde en condiciones especiales se recubre con una capa de oro de aproximadamente 100 nm (23).

## OBSERVACION DE LA MUESTRA CON EL MEB.

La muestra recubierta se lleva a la cámara del MEB y ahí se procede a enfocar y observar con magnificaciones progresivas las estructuras del quiste (24).

#### TOMA DE MICROGRAFIAS Y REVELADO.

Se adaptó una cámara fotográfica Canon AV-1 con rollo PLUS-X-PAN ASA-125, con la que se tomaron 19 micrografías (24).

Se utilizó en el revelado papel KODAKBROMIDE 5X7 TIPO F-3.

A continuación se proporciona el trabajo obtenido, el cual está arreglado de tal manera que permite observar las estructuras características de los quistes, teniendo en cuenta los incrementos correspondientes de cada micrografía.

5. RESULTADOS.



FIG. 1. Micrografía de dos quistes de *Sarcocystis miescheriana*, presentes en el músculo cardíaco de un cerdo.

Vista general de los quistes a 70X.

Corte transversal.

Los quistes son inmaduros. Esto se establece debido a que en el quiste más grande se observan unos espacios oscuros, que corresponden a merozoítos, mientras que en la parte central apenas se alcanza a ver los metrocitos.

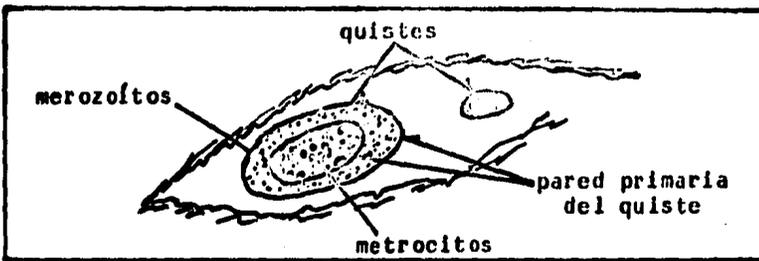


Diagrama esquemático de la FIG. 1.



FIG II. Micrografía electrónica de dos quistes de *Sarcocystis miescheriana*, encontrados en el músculo cardiaco de un cerdo.

Vista general de los quistes a 150X.

Corte transversal.

Aquí también se observan los dos quistes inmaduros pero con me jo r de fi ni ci ó n de las estructuras.

En toda la micrografía se observa con claridad tres zonas; en la parte central la primera que corresponde al interior del quiste, contiene a los merozoítos, a los metrocitos y substancia basal; en la parte intermedia la segunda, que corresponde a la pared primaria del quiste formada de substancia basal; y en la parte externa la tercera que corresponde a las fibras musculares ca rd ia ca s.

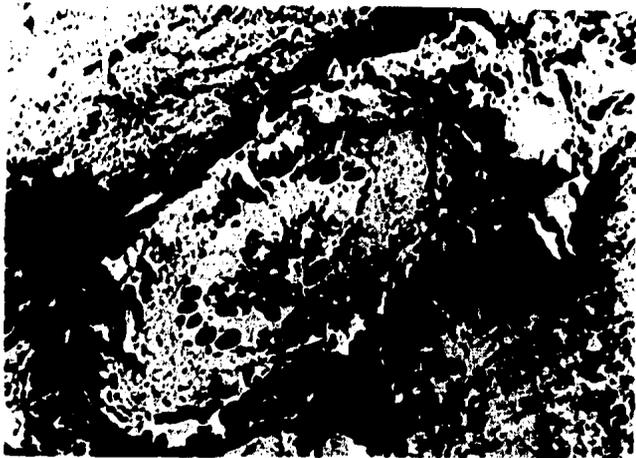


FIG III. Micrografía electrónica de dos quistes de *Sarcocystis miescheiana*, encontrados en el músculo cardíaco de un cerdo.

Vista general de los quistes a 200X.

Corte transversal.

Se siguen observando las estructuras principales de los quistes, sin embargo se puede comentar acerca de lo que el proceso le causó a la muestra; claramente se observa una contracción de los quistes durante el proceso de la deshidratación lo que originó una fractura entre el quiste y las fibras musculares; por otro lado se observa que en el proceso de corte con el microtomo hubo desgarré que originó la presencia de partes del quiste como sueltas.



**FIG IV. Micrografía electrónica de dos quistes de *Sarcocystis miescheriana*, encontrados en el músculo cardíaco de un cerdo.**

**Vista general de los quistes a 300X.**

**Corte transversal.**

Aquí ya se ven con mayor claridad las estructuras del quiste más grande. La pared primaria del quiste es demasiado gruesa y sin protuberancias características, lo que ratifica los estudios de quistes de pared primaria gruesa. Los merozoítos se encuentran en la periferia del interior del quiste, mientras que los metrocitos se localizan en la región central.

En la parte superior derecha se ve parte del otro quiste. Los merozoítos se observan como oquedades oscuras y debido a que están cortados transversalmente no se aprecia bien la forma de plátano. Los metrocitos se ven como pequeños gránulos globulares.

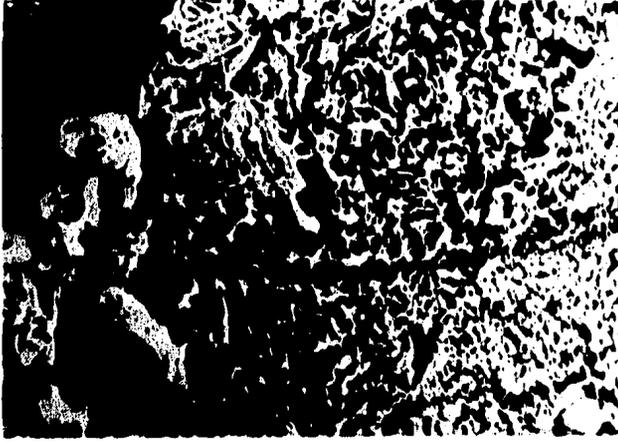


FIG V. Micrografía electrónica de la pared primaria del quiste de *Sarcocystis miescheriana*.

Detalle de la parte inferior izquierda del quiste a 2000X.

Muestra con mayor definición la pared primaria del quiste. Por el lado superior izquierdo la oquedad debido a la fractura o contracción de las fibras musculares durante la deshidratación. Por la parte inferior derecha se alcanza a ver la separación entre la pared primaria y la substancia basal del interior del quiste. Al centro se encuentra la gruesa pared primaria del quiste la cual parece estar constituida por material amorfo.

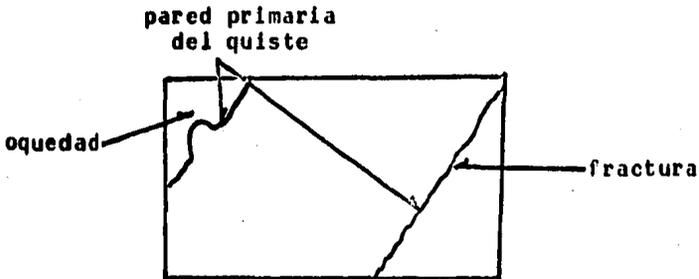


Diagrama esquemático de la FIG. V.

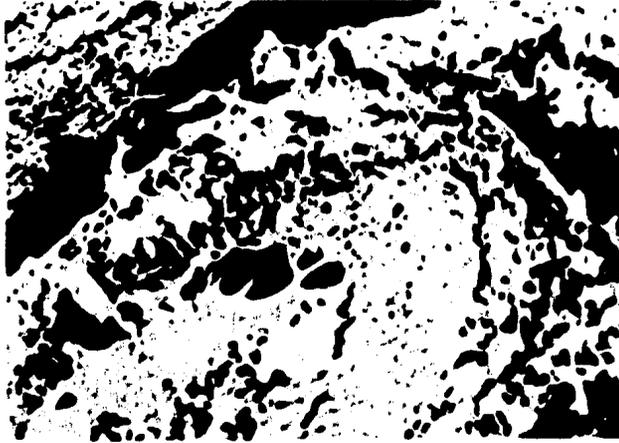
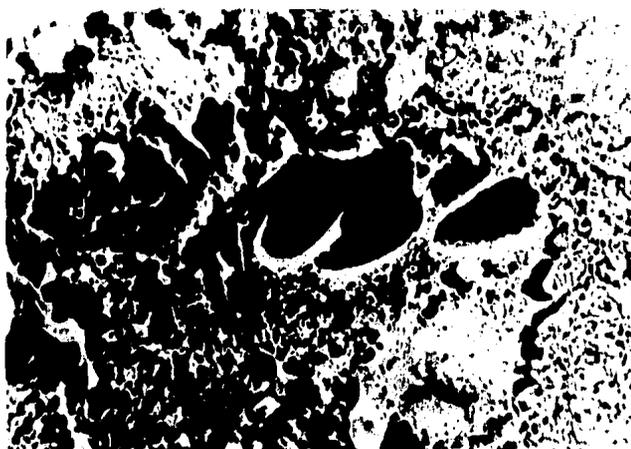


FIG. VI. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheriana*.  
Detalle superior del quiste a 700X.

Se observa gran parte del interior del quiste y la pared prima  
ria; los espacios oscuros corresponden a microzoítos y demasiado  
borrosos se ven los metrocitos en la parte inferior.



**FIG. VII.** Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheniana*.  
Detalle de la parte superior del quiste a 1500X.

En ésta se ve con mejor finura las estructuras principales del quiste. Los espacios oscuros son los merozoítos. El hecho de que aparezcan como oquedades se debe a que durante el proceso de deshidratación sus estructuras internas se salieron. Se alcanzan a ver metrocitos de forma globular en la parte inferior. La substancia basal del interior del quiste se observa claramente.

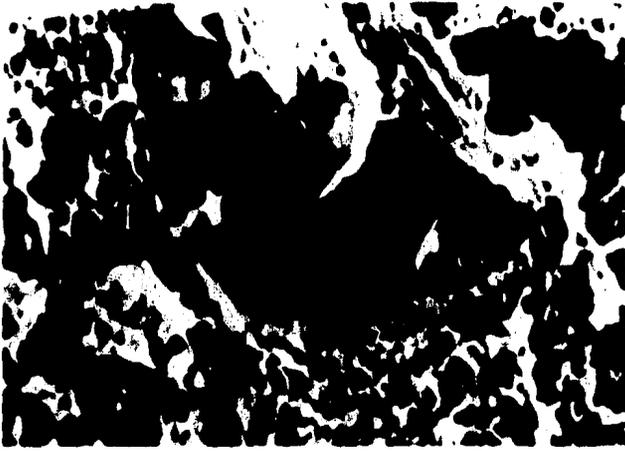
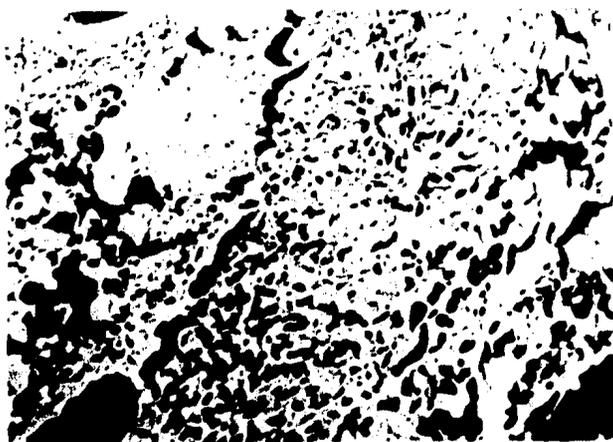


FIG. VIII. Micrografía electrónica del quiste de *S. mieschenigana*.

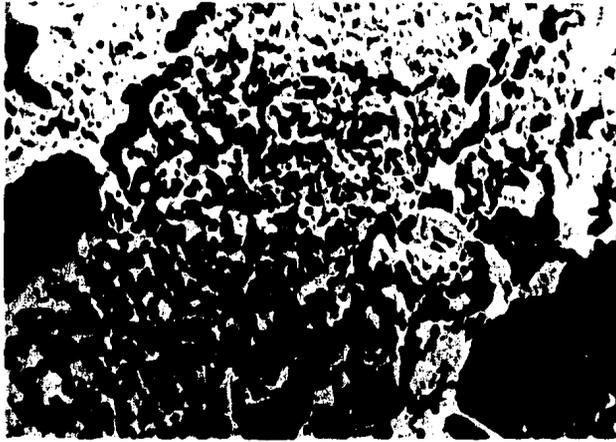
Detalle inferior izquierdo de la FIG VII, a 4500X.

Se ve en toda su plenitud la oquedad que corresponde a un mero zoíto. Las estructuras que se observan enfrente de él son fibras musculares desgarradas en el proceso de corte con el microtomo.



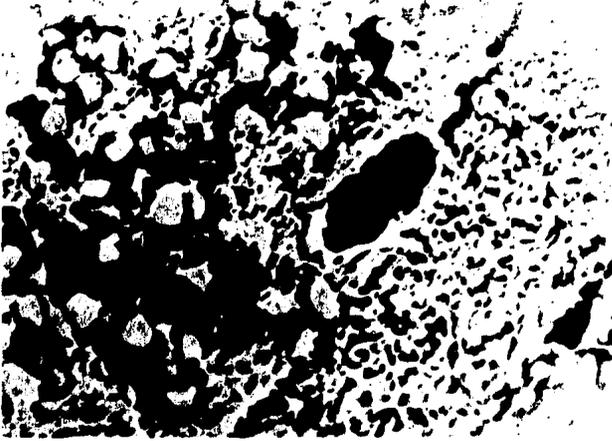
**FIG IX.** Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheriana*.  
Detalle derecho del quiste a 1500X.

Aquí también se observan la mayoría de las estructuras principales del quiste, pero sobre todo se ve con gran precisión la fisura que separa a la pared primaria del quiste, del interior del quiste. En la parte inferior izquierda se encuentra un merozoíto y arriba de él algunos metrocitos. La pared primaria del quiste presenta un aspecto fibrilar compacto.



**FIG. X. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheniana*.  
Detalle derecho del quiste a 2000X.**

Se ve bien delimitada la pared primaria del quiste. En la parte izquierda hay un merozoíto. La substancia basal amorfa de la pared primaria parece formada de material compacto.



**FIG. XI. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheniana*.  
Detalle inferior derecho del quiste a 1500X.**

Se ve un merozoito en forma de oquedad en la parte derecha; mientras que en toda la parte izquierda se encuentran muchos merozoitos de forma globular y muy cerca a ellos substancia basal rodeándolos.



FIG. XII. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheniana*.  
Detalle de la FIG. XI a 3000X.

Se observan una gran cantidad de metrocitos globulares y substancia basal rodeándolos o adherida a ellos.

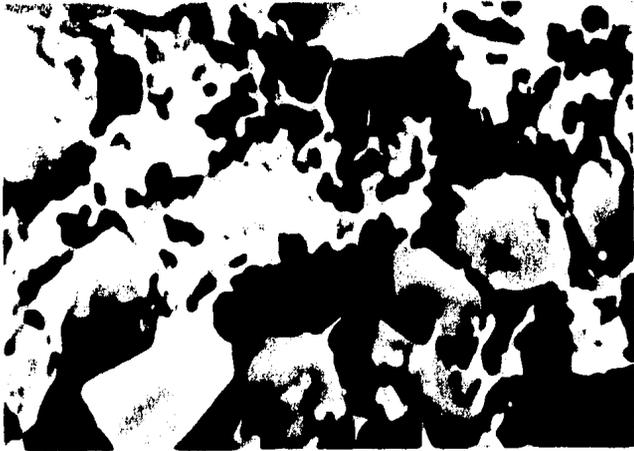


FIG. XIII. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheriana*.

Detalle de la FIG. XII a 7000X.

Los metrocitos se ven con gran definición; presentando forma globular, muy cerca a cilios se encuentra la substancia granular.

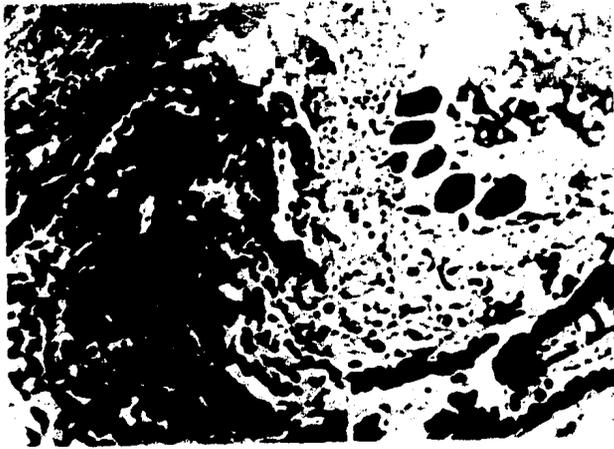


FIG. XIV. Micrografía electrónica del quiste de *S. mieschenig na*.

Detalle inferior del quiste a 700X.

Se muestra la pared primaria del quiste en la parte central, y en la parte superior derecha seis merozoitos y arriba de ellos substancia basal con metrocitos cerca de ella.



FIG. XV. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheriana*.  
Detalle de la parte inferior del quiste a 1000X.

Los espacios oscuros de la parte superior derecha son dos me-  
rozoítos, y gran parte de la pared primaria también se ve.



FIG. XVI. Micrografía electrónica del quiste de *S. miescheniana*.  
Detalle de la parte inferior a 2000X.

Aparecen seis merozoítos en forma de espacios oscuros grandes.  
Y en la parte superior derecha algunos metrocitos globulares con  
substancia basal cerca de ellos. La pared primaria del quiste pa-  
rece que forma septos dentro del quiste.

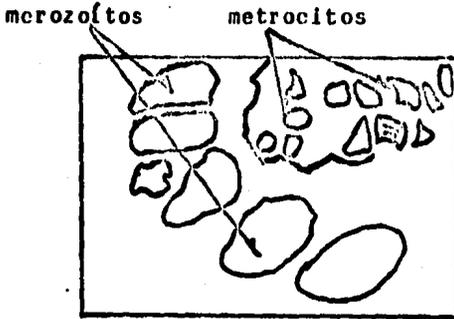
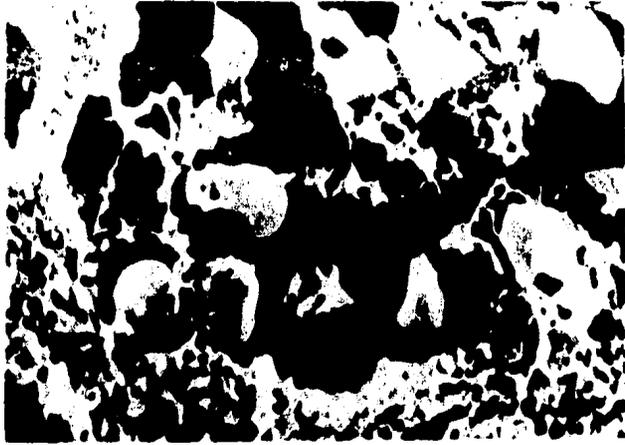


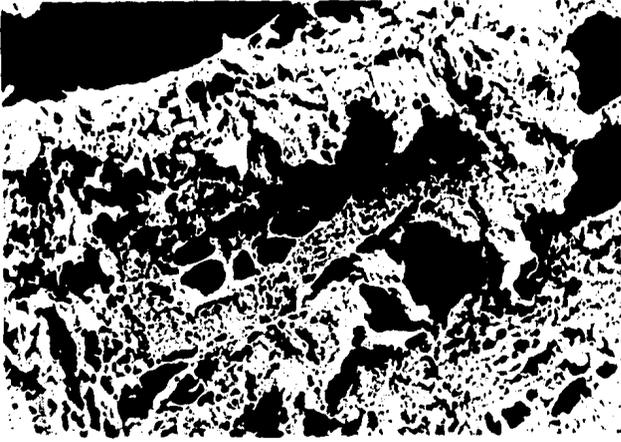
Diagrama esquemático de la FIG. XVI.



**FIG. XVII. Micrografía electrónica del quiste de *S. mieschenig na*.**

**Detalle superior de la FIG. XVI a 4500X.**

**A mayor acercamiento se ven los metrocitos como dentro de un compartimiento y se observa substancia basal cerca de ellos.**



**FIG. XVIII.** Micrografía electrónica de quiste de *S. miescheriana*.

Vista general del quiste más pequeño a 700X.

Se observan bien las estructuras del quiste como son, la pared primaria del quiste y en el interior algunos merozoítos.

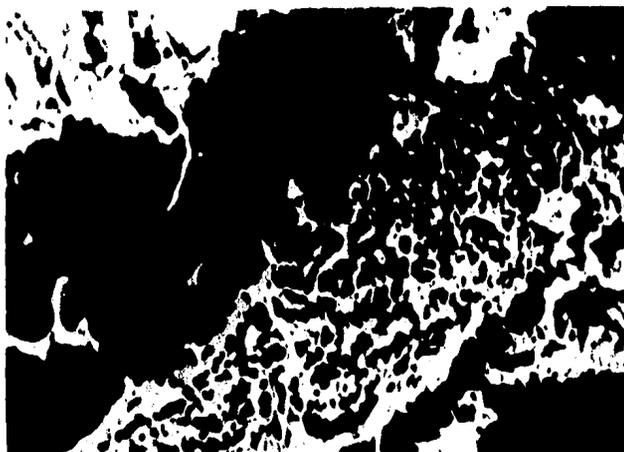


FIG. XIX. Micrografía electrónica de quiste de *S. miescheriana*.  
Detalle del quiste más pequeño a 3000X.

Esta parte corresponde al lado derecho del quiste. Se observa  
la pared primaria muy bien delimitada, en la zona central.

## 6. ANALISIS DE RESULTADOS.

Se observaron dos quistes inmaduros de *Sarcocystis miescheriana*. En el más grande se ven las estructuras principales de un quiste; pared primaria del quiste, merozoítos y metrocitos (Fig. XX).

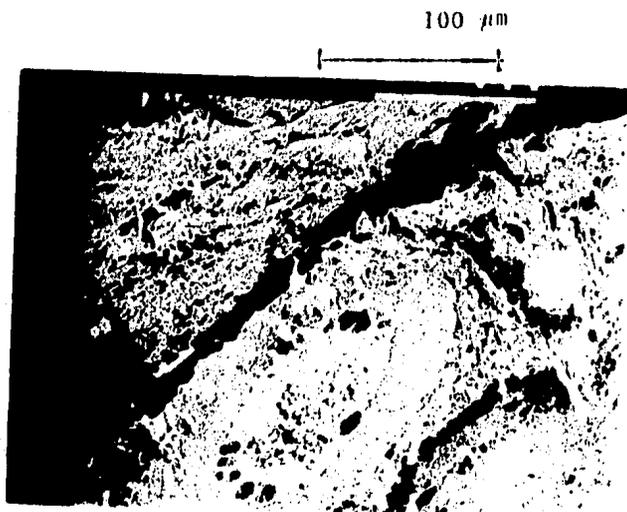
La pared es gruesa y sin protuberancias, lo cual esta de acuerdo con lo reportado en la bibliografía.

El ancho de los merozoítos fue de  $17.64 \mu\text{m}$ , mientras que se reporta (1) para los merozoítos presentes en los quistes una longitud de  $15 \mu\text{m}$ .

Los metrocitos dieron una magnitud de  $5.88 \mu\text{m}$ . En la literatura reportan un tamaño que va de 4 a  $12 \mu\text{m}$ .

El quiste midió  $117.6 \mu\text{m}$  de ancho y  $249.9 \mu\text{m}$  de largo.

En lo que respecta a la pared primaria del quiste tuvo  $29.4 \mu\text{m}$  de espesor.



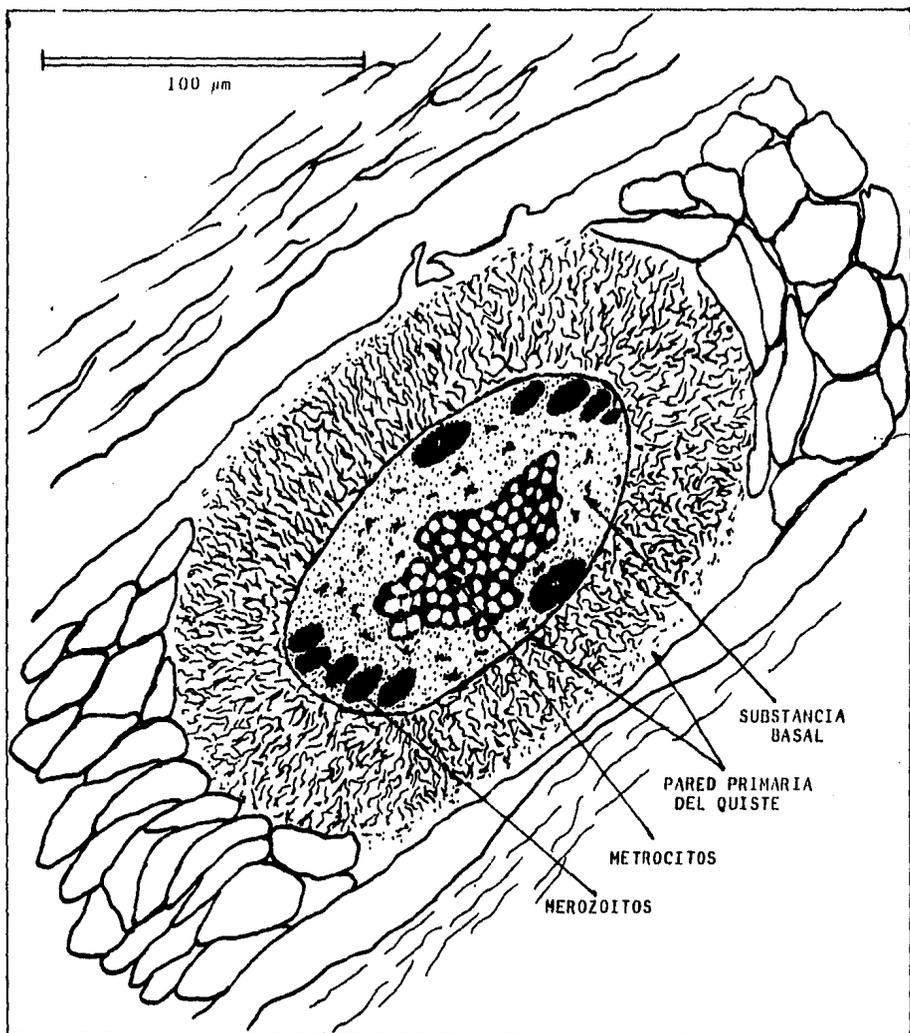


FIG. XX. Diagrama esquemático del quiste de *Sarcocystis mieschleriana* presente en músculo cardíaco, basado en las micrografías obtenidas.

## 7. DISCUSION.

De una muestra muscular de corazón de cerdo, que contenía dos quistes de *S. miescheniana*, se hicieron preparaciones para su posterior observación al microscopio óptico y al MEB. Los resultados obtenidos mostraron a los dos quistes con todo detalle. No obstante debe recordarse que se ha reportado hasta ahora tres especies de *Sarcocystis* que forman quistes en la musculatura de los cerdos. Faltaría por ver a qué tipo de *Sarcocystis* pertenecen.

Se reporta poco en la literatura, micrografías del quiste de *Sarcocystis miescheniana* en corte transversal con la técnica de microscopía electrónica de barrido, por lo que se hace por un lado difícil la identificación de las estructuras y por otro adquiere mayor importancia.

El presente trabajo es de naturaleza multidisciplinaria ya que se conjugan una serie de metodologías que van desde la recolección del parásito del cerdo, hasta la preparación de la muestra para ser observada por el microscopio electrónico de barrido.

La serie de micrografías obtenidas nos permiten ver que hay mucho que hacer en la descripción del ciclo de vida de los *Sarcocystis*.

## 8. CONCLUSIONES.

8.1. Se logró obtener micrografías básicas de alto valor morfológico del quiste de *Sarcocystis miescheriana*, las cuales nos pueden proporcionar un juicio más consistente en la diferenciación de las especies de *Sarcocystis* en cerdos.

8.2. Los quistes son inmaduros. No se determinó la presencia de quistes maduros.

8.3. Se confirma la estructura quística de *Sarcocystis*.

8.4. El presente trabajo nos aporta una metodología de alta resolución para los quistes de *Sarcocystis*.

8.5. Se ratifica el MEB como instrumento científico de gran aplicabilidad para las ciencias biológicas.

9. BIBLIOGRAFIA.

1. Mehlhorn, H. and Heydorn, A.O.  
The *Sarcosporidia* (Protozoa, Sporozoa):  
Life Cycle and Fine Structure.  
Adv. Parasitol 16: 43-72 (1978).
2. Levine, N.D. and Tadros, W.  
Named Species and Hosts of *Sarcocystis* (Protozoa;  
*Apicomplexa*; *Sarcocystidae*).  
Syst. Parasitol 2: 41-59 (1980)
3. Barrow, P.L., Prestwood, A.K., Adams, O.D., and Dykstra, M.J.  
Development of *Sarcocystis suicanis* Erber, 1977 in the Pig.  
J. Parasitol., 68 (4): 674-680 (1982).
4. Dubey, J.P.  
*Sarcocystis*. Parasitic Protozoa.  
Academic Press (3): 176-186, (1977).
5. Scholtyssek, E.  
Fine Structure of Parasitic Protozoa.  
Springer-Verlag. pp. 15-35 (1979).
6. Soulsby, E.J.L.  
Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.  
Academic Press. Fifth Edition (1982).
7. Smith, D.D.  
The Sarcocystidae: *Sarcocystis*, *Frenkelia*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*,  
*Hammondia*, and *Cystoisospora*.  
J. Protozool. 28 (2): 262-266 (1981).

8. Levine, N.D.  
Nomenclature of *Sarcocystis* in the Ox and Sheep, and of Fecal Coccidia of the Dog and Cat.  
*J. Parasitol.*, 63 (1): 36-51 (1977).
9. Zaman V.  
Atlas de Parasitología Médica.  
Editorial Médica Panamericana . pp. 121-128 (1982).
10. Mehlhorn, H. and Frenkel, J.K.  
Ultrastructural Comparison of Cysts and Zoites of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis muris*, and *Hammondia hammondi*, in Skeletal Muscle of Mice.  
*J. Parasitol.*, 66 (1): 59-67 (1980).
11. Fayer, R. and Leek, R.G.  
*Sarcocystis* Transmitted by Blood Transfusion.  
*J. Parasitol.*, 65 (6): 890-893 (1979).
12. Dubey, J.P.  
Frequency of *Sarcocystis* in Pigs in Ohio and Attempted Transmission to Cats and Dogs.  
*Am. J. Vet. Res.* 40 (6): 867-868 (1979).
13. Beaver, P.C., Gadgil, R.K., and Morera, P.  
*Sarcocystis* in Man: A Review and Report of Five Cases.  
*Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28: 819-844 (1979).
14. Tadros, W. and Laarman, J.J.  
*Sarcocystis* and Related Coccidian Parasites: A Brief General Review Together With a Discussion on Some Biological Aspects of Their Life Cycles and a New Proposal for Their Classification.  
*Acta Leiden* 44: 1-137 (1976).

15. Bourret, A. y Portier, R.  
Ver los Atomos.  
Mundo Científico. 3 (27): 746-757 (1983).
16. Barrios, P.R.A.  
Formación de Imágenes en el Microscopio Electrónico.  
Ed. UNAM 1a. Edición. pp. 9-27 (1982).
17. Feynman, R.P., Leighton, R.B., and Sands, M.  
The Feynman Lectures on Physics.  
Fondo Educativo Interamericano. 2: 29 (1971).
18. Hayat, M.A.  
Introduction to Biological Scanning Electron Microscopy.  
University Park Press Baltimore, Maryland.  
pp. 3-45 (1978).
19. Oathey, C.W.  
The Scanning Electron Microscope.  
Cambridge University Press, Cambridge, England.  
pp. 9-17 (1972)
20. "Instructions".  
JSM-25S II/III.  
Scanning Microscope.  
No. IEP 25S 2/3-I  
EP 163124.  
Tokyo Japan.  
pp. I, 1.7, 1.32, 3.6, 3.7.
21. "Instruction Book".  
Ion Sputter JFC-1100  
(Setting, Operation).  
Jeol LTD.  
Tokyo Japan.

22. Barreto, M.G.  
Técnica de Histokinetite y de la Tinción Hematoxilina-Eosina.  
Departamento de Ciencias Morfológicas FES-C (1985).
23. Freifelder, D.  
Técnicas de Bioquímica y Biología Molecular.  
Editorial Reverté, S.A.  
pp. 63-66 (1979).
24. Robles, G.R.  
Técnica de Recubrimiento con Oro y Revelado Fotográfico.  
Departamento de Estudios de Postgrado FES-C (1985).