

60
205



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



DETERMINACION DE ESPECIES DEL GENERO
Sarcocystis (Lankaster, 1882) EN BOVINOS CON
ESPECIAL ENFASIS EN LA ESPECIE ZONOTICA
PARA EL HUMANO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
MARIA GUADALUPE RODRIGUEZ HERNANDEZ

ASESOR:
M.V.Z. JUAN PABLO MARTINEZ LABAT

CUAUTITLAN, IZCALLI

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

I	RESUMEN.....	1
II	INTRODUCCION	
	-Antecedentes históricos.....	3
	-Clasificación del género <u>Sarcocystis</u>	6
	-Localización.....	7
	-Morfología.....	7
	-Distribución geográfica.....	12
	-Epidemiología.....	12
	-Ciclo biológico.....	14
	-Patogenia.....	17
	-Cuadro clínico.....	21
	-Lesiones.....	23
	-Inmunología.....	24
	-Diagnóstico.....	25
	-Control y prevención.....	27
	-Tratamiento.....	29
III	OBJETIVOS.....	31
IV	MATERIAL Y METODO.....	32
V	RESULTADOS.....	40
VI	DISCUSION.....	55
VII	CONCLUSION.....	59
VIII	BIBLIOGRAFIA.....	60

R E S U M E N

El presente estudio se realizó con la finalidad de determinar las especies del género Sarcocystis que afectan a los bovinos, con especial énfasis en la especie zoonótica para el humano : Sarcocystis hominis.

Se colectaron 50 muestras de cada uno de los siguientes tejidos : esófago, diafragma, corazón y lengua de bovinos. Este material se obtuvo del Rastro de Tlalnepantla, Estado de México.

Las muestras fueron sometidas al procesamiento histológico de rutina para llevar a cabo su estudio mediante microscopia óptica, para determinar de forma inicial la presencia de diferentes especies en función de las características de la pared de los quistes, así como la distribución anatómica y porcentual de las especies halladas; identificandose dos especies del género Sarcocystis : Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis.

Se eligieron las piezas más representativas de ambas especies para estudiarlas mediante Microscopia Electrónica de Barrido. La realización de dicho estudio permitió la plena identificación y caracterización de : Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis.

La distribución anatómica y porcentual de Sarcocystis cruzi determinada mediante éste estudio indica que el tejido en el cual se presentó el porcentaje más elevado es en el tejido cardíaco (58.05 %) y en orden decreciente en diafragma (17.97 %), esófago (14.04 %) y lengua (9.92 %). El número total de quistes hallados de ésta especie es de 534.

En el caso de Sarcocystis hominis el porcentaje más elevado se presentó en diafragma (71.42 %). En tejido cardíaco y esófago el porcentaje determinado es el mismo para ambos tejidos (14.28 %). En lengua no se detectó la presencia de ésta especie. El número total de quistes de Sarcocystis hominis es de 7.

La presencia de Sarcocystis cruzi en los tejidos de bovino es notoriamente más elevada en comparación con la otra especie detectada : Sarcocystis hominis. Lo cual nos permite concluir que la diseminación de ésta infección en los bovinos es causada por el inadecuado control sanitario de los sitios de pastoreo, el difícil manejo de la población canina (hospedero definitivo) y sus fuentes de alimentación, existiendo además el factor de dispersión y contaminación por medio el humano debido a la ingesta de carne mal cocida contaminada con Sarcocystis hominis que puede causarle una infección localizada que en la mayoría de los casos no es de consideración, pero que favorece a los mecanismos de transmisión humano-bovino.

I N T R O D U C C I O N

ANTECEDENTES HISTORICOS

A fines del siglo pasado fueron observados en fibras de músculo esquelético y cardiaco de aves, peces, reptiles y mamíferos de manera común, pequeños quistes tubulares que contenían esporas en desarrollo, siendo descritos por vez primera en 1843 por Miescher en la musculatura de un ratón de casa (*Mus musculus*) y fueron llamados más tarde túbulos o cuerpos de Miescher (Jones, 1983).

En 1882 Lankaster denominó a éste parásito con el nombre de Sarcocystis (Sarco = músculo, cystis = músculo) (Dubey y Fayer, 1986).

Hasta 1970 no se conocía el rango taxonómico ni las fuentes de infección por lo que aún su ciclo biológico no era descrito (Dubey y Fayer, 1986). Mediante la utilización del microscopio electrónico se logró la observación y comparación de las etapas del quiste de éste parásito, lo que permitió sospechar que podría existir un ciclo biológico semejante al de los coccidios en los sarcosporidios. Esta suposición fué reafirmada por el descubrimiento del ciclo biológico de Toxoplasma gondii, el cual

también forma quistes y tiene una estructura fina similar a Sarcocystis (Melhorn y Heydorn, 1978).

Inicialmente se pensaba que cada especie animal que intervenía como hospedador intermediario era únicamente parasitada por una sola especie de Sarcocystis. Sin embargo se demostró que diferentes especies de Sarcocystis pueden formar quistes en el hospedador intermediario (Levine y Tadros, 1980).

Particularmente en 1975 Heydorn y col. fueron quienes encontraron evidencias de las tres especies de Sarcocystis en bovinos: Sarcocystis cruzi, Sarcocystis hirsuta y Sarcocystis hominis y los estados sexuales del parásito en caninos, felinos y el hombre respectivamente. La presencia de diferencias estructurales entre los quistes de éstas especies de Sarcocystis halladas en bovinos causaba dificultades para su identificación por lo que Heydorn propuso una nueva nomenclatura en la que se combinaba el nombre del hospedador intermediario con el del hospedero definitivo (Dubey y Fayer, 1989).

NOMBRE ORIGINAL	NOMBRE NUEVO	HOSPEDERO INTERMEDIARIO	HOSPEDERO DEFINITIVO
<u>S. fusiformis</u>	<u>S. bovihominis</u> <u>S. bovicanis</u> <u>S. bovifelis</u>	Bovinos Bovinos Bovinos	Hombre Perros Gatos
<u>S. miescheriana</u>	<u>S. suicanis</u> <u>S. sui hominis</u>	Cerdos Cerdos	Perros Hombre
<u>S. tenella</u>	<u>S. ovicanis</u> <u>S. ovifelis</u>	Ovinos Ovinos	Perros Gatos

CUADRO 1 Lista de Sarcocystis con sus hospederos definitivos e intermediarios (Quiroz, 1984)

Levine puntualiza que el uso de ésta nomenclatura propuesta por Heydorn de acuerdo con las reglas del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica se contrapone a la ley de prioridad. Por lo tanto es recomendable utilizarla únicamente para una diferenciación o identificación más práctica y sencilla de las especies tanto en hospederos intermediarios como definitivos.

La sarcocistosis tiene una distribución geográfica cosmopolita. El ganado puede contaminarse en cualquier época del año. La frecuencia en la presentación de determinadas especies de

Sarcocystis que afectan al bovino : Sarcocystis cruzi, Sarcocystis hirsuta y Sarcocystis hominis se ven influenciadas por la zona geográfica de que se trate como se indica en la literatura :

PAIS	NUMERO DE MUESTRAS	%	PORCENTAJES POSITIVOS CON:		
			<u>S. cruzi</u>	<u>S. hominis</u>	<u>S. hirsuta</u>
AUSTRIA	320	87 ^a	70	51	44
AUSTRIA	1337	94	56	48	42
BRASIL	168	96	69	4	8
REP.FED. ALEMANA	1020	99.7 ^b	66	63	34
	46	83 ^a	30	4	41
NUEVA ZELANDA	500	100	98	? ^c	80

a Infecciones mixtas 5 Y 6 % respectivamente.

b Por digestión.

c ? Desconocido.

CUADRO 2. Prevalencia de tres especies de Sarcocystis. en ganado infectado de manera natural (Dubey y Fayer, 1989).

En 1978, Melhorn describe el ciclo biológico de una especie de Sarcocystis dándose una acelerada evolución en los conocimientos en torno al género y a todas las especies que hasta el momento se presentan y son cuando menos noventa y dos. El género Sarcocystis comparte nivel taxonómico con : Toxoplasma, Besnoita, Hammondia y Citoisospora (Jubb, 1985).

CLASIFICACION DEL GENERO Sarcocystis

REINO	:	Animalia
SUBREINO	:	Protozoa
PHYLUM	:	Apicomplexa
CLASE	:	Sporozoasida
SUBCLASE	:	Coccidiasina
ORDEN	:	Eucocciorida
SUBORDEN	:	Eimeriorina
FAMILIA	:	Sarcocystidae
SUBFAMILIA	:	Sarcocistinae
GENERO	:	<u>Sarcocystis</u>
ESPECIE	:	<u>S. cruzi</u> , <u>S. hirsuta</u> , <u>S. hominis</u>

(Dubey y Fayer 1986)

En 1970 Levine realizó estudios ultraestructurales del género Sarcocystis, lo cual permitió establecer que éste protozoario pertenece al Phylum Apicomplexa, que se caracteriza por la presencia de finos rasgos típicos estructurales que se localizan principalmente en la región anterior de la célula, formando el llamado Complejo Apical. Este se encuentra constituido por una cutícula, anillo polar, microporos, conoide, micronemas y toxonemas. Estas estructuras fueron reveladas por el microscopio electrónico permitiendo así la creación de éste nuevo Phylum.

LOCALIZACION

El género Sarcocystis es el agente causal de la sarcocistosis. La localización de éste parásito se determina en función del tipo de hospedero que esté parasitando.

En los hospederos definitivos (carnívoros), Sarcocystis spp se presenta intracelularmente en el epitelio del intestino delgado de manera temporal (Jeffrey, 1974).

En los hospederos intermediarios (hervívoros), éste parásito se presenta en una localización extraintestinal, predominando su afinidad por fibras lisas (esófago principalmente), músculo cardíaco y músculo esquelético (diafragma y otros). También puede encontrarse en sistema nervioso central y en cantidades bajas en miocardiocitos conducentes (Dubey y Fayer, 1989).

MORFOLOGIA

En base al tipo de hospedero que esté parasitando, Sarcocystis presenta diferentes etapas derivadas de la reproducción sexual y asexual.

-Etapas sexuales

En la reproducción sexual se presentan las siguientes etapas, a partir de la ingestión de bradizoitos por el hospedero definitivo:

a) Macrogametos : son ovoides a esféricos, tienen un diámetro de 10 a 20 μm de diametro, vacuolas y contienen un núcleo con cromatina compacta (Dubey y Fayer 1989).

La gamagonia de Sarcocystis se dá como oogamia, por lo que el núcleo de los gametocitos femeninos en crecimiento no hacen posteriores divisiones debido a lo cual los gametos maduros se llaman macrogametos (Melhorn y Heydorn, 1978).

b) Microgametos : son ovoides, contienen uno o varios núcleos. Los núcleos de los gametos vesiculares se dividen en diferentes núcleos (normalmente arriba de 15) (Dubey y Fayer 1986).

En el gametocito masculino se presentan primeramente una fase de divisiones mitóticas nucleares y posteriormente la formación verdadera de pequeños gametos (microgameto).

c) Microgametocitos : son de forma esférica y miden 4 x 10 μ . Poseen un núcleo compacto, y están cubiertos por una membrana simple que está constituida por dos cuerpos basales, dos flagelos y una mitocondria (Melhorn y Heydorn, 1978).

d) Ooquistes : se presentan dos formas de ooquistes maduros e inmaduros.

-Inmaduros (no esporulados).- Tienen forma elipsoidal, poseen una pared lisa relativamente delgada con una capa densa y varias membranas fundamentales.

-Maduros (esporulados).- Tienen forma esférica o ovoide, tienen pared lisa, delgada y amarillenta compuesta de dos capas. Cada ooquiste maduro contiene dos esporoquistes elongados y a su vez cada uno de estos contiene cuatro esporozoitos elongados y residuos granulares que se compactan o se dispersan, cada esporozoito posee un núcleo central o terminal y algunos gránulos citoplasmáticos. Cada ooquiste maduro o esporulado contiene ocho esporozoitos (Dubey y Fayer, 1983). Ocasionalmente ooquistes no esporulados y parcialmente esporulados pueden encontrarse en heces del hospedero definitivo.

En Sarcocystis cruzi los microgametos maduros miden 7 x 5 μm y contienen de 3 a 11 gametos delgados (Dubey y Fayer, 1989).

Los esporozoitos de Sarcocystis cruzi miden aproximadamente 16 x 11 μm . En los bovinos ésta especie es la más común y patogénica comparada con Sarcocystis hirsuta y Sarcocystis hominis (Dubey y Fayer, 1986).

Los esporozoitos de Sarcocystis hirsuta miden aproximadamente 12 x 1 μm . Esta especie es considerada nociva para el ganado.

Los esporozoitos de Sarcocystis hominis miden aproximadamente 15 x 9 μm y son eliminados en las heces de los hospederos definitivos. Esta especie es aparentemente no patogénica para el ganado (Soulsby, 1982).

-Etapas asexuales

En el hospedero intermediario Sarcocystis varía en tamaño y forma dependiendo de la especie de que se trate.

El cuerpo de Miescher está localizado dentro de una vacuola parasitaria en la célula del hospedero.

La membrana que se encuentra rodeando la vacuola forma parte de la pared del quiste y se considera como la membrana interna. A la observación microscópica la pared del quiste puede ser lisa, estriada o pilosa.

La pared del quiste puede observarse clara o hialina y puede ser de estructura diagonal laminada, éstas pueden tener algunos cuerpos unidos o separados extendidos en la pared, lo cual divide al quiste en pequeños compartimentos en los cuales se ubican los bradizoitos (Jones, 1983). Los septos usualmente miden menos de 2

μm de grosor y son eosinofílicos (Dubey y Fayer 1989).

En el cuerpo de Miescher por lo regular aparecen dos formas de parásitos:

Metrocitos : son de forma globular y también se les denomina células madres. Poseen una matriz citoplasmática, numerosos ribosomas, algunas mitocondrias, algunos gránulos de amilopectina y núcleos difusos.

Cada metrocito produce dos progenies por una forma de multiplicación denominada endodogénea, aumentando así el número de metrocitos que posteriormente darán origen a las denominadas células en forma de platano de los trofozoitos que a su vez se dividen en :

1) Taquizoitos (primera generación de merozoitos)

2) Bradizoitos (segunda generación de merozoitos). Los bradizoitos son fuertemente basófilos, tienen forma elíptica o de platano, miden $4 \times 8 \mu\text{m}$ (Jones, 1983) y contienen prominentes gránulos de amilopectina, que con la tinción de PAS pueden ser teñidos de color rojo brillante (Noble, 1989).

El bradizoito es la forma infectante para el hospedero intermediario (Soulsby, 1982).

Las tres especies de Sarcocystis en bovinos (cruzi, hirsuta, y hominis), producen quistes macroscópicos en infecciones naturales. En el caso de Sarcocystis hominis aún no han sido estudiados los quistes que produce ésta especie.

El tamaño y forma de Sarcocystis varía en función de la edad del parásito, el tipo de célula del hospedador al que parasita y las técnicas que se utilizan para su estudio. Por ejemplo Sarcocystis de la misma especie en músculo cardiaco y en el sistema nervioso central son siempre más pequeños que en el músculo esquelético (Dubey y Fayer, 1989).

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

La distribución geográfica de Sarcocystis spp es mundial y su prevalencia es elevada. En los Estados Unidos del 75 al 98 % de corazones de bovinos examinados fueron positivos presuntivamente a Sarcocystis cruzi (Dubey y Fayer, 1986).

En México, Mercado (1971), notificó haber encontrado 94 casos positivos a Sarcocystis spp de 100 muestras de corazón de bovino. Ponce encontró 68 % de Sarcocystis spp en vacas y 0 % en fetos de bovinos sacrificados en el Rastro de la ciudad de México. Skandar informó haber encontrado 90 % de casos positivos a Sarcocystis spp en músculos intercostales, diafragma, glúteos y pectorales de

bovinos sacrificados en dicho rastro (Quiroz, 1984).

EPIDEMIOLOGIA

La sarcocistosis en el ganado es generalmente una enfermedad crónica sin embargo también pueden darse presentaciones agudas, pero esto dependerá de la dosis del inóculo (Dubey y Fayer, 1986).

Las infecciones causadas por Sarcocystis se propagan ampliamente y la presencia de quistes son la causa del decomiso de la carne (Blood, 1986). La contaminación de los animales puede darse en cualquier época del año aunque se ve favorecida por condiciones ambientales tales como humedad y temperatura adecuadas para los ooquistes esporulados eliminados por el hospedero intermediario en las heces, éstas condiciones propicias se presentan en los meses de otoño, invierno y primavera (Quiroz, 1984).

La contaminación del agua y los alimentos que ingiere el ganado puede ser causada de manera directa es decir se contaminan con heces frescas del hospedero definitivo, o bien la desecación de estas mismas heces que contienen los esporocistos que por acción del viento pueden ser transportadas a otros sitios en forma de polvo y llevar a cabo la contaminación indirecta (Blood, 1986).

Después de completar sus estados de maduración en los tejidos del ganado, Sarcocystis se enquistas en el músculo cardiaco, esquelético y músculos lisos, donde sobrevive por largos períodos. Dentro del hospedero intermediario varía el desarrollo del parásito así como las consecuencias de la infestación (Jensen, 1986).

Los factores que afectan el número y distribución de Sarcocystis incluyen el número de organismos ingeridos, la especie, el hospedero y el estado inmunológico del mismo (Dubey y Fayer, 1986).

No obstante que el nivel de infección natural es bajo en el ganado, cuando se administra experimentalmente una dosis de 200,000 esporocistos de Sarcocystis cruzi, puede causar una enfermedad clínica severa. Cuatro semanas posteriores a la administración de la dosis patogénica el animal presenta signos clínicos prominentes (Bradford, 1990).

Se han registrado brotes de sarcocistosis clínica en bovinos cuya infección se inició en perros albergados en el mismo cobertizo (Blood, 1986). Es frecuente la infección asintomática, por ejemplo el ganado con permanencia continua en campos de pastura pueden llegar a ingerir esporozoitos provocando probablemente una fuerte inmunidad ante su posible infección ulterior.

Cuando grupos de ganado entran en contacto de manera repentina

con lugares contaminados especialmente por perros y gatos es posible que ocurran brotes clínicos de la enfermedad (Blood, 1986).

La edad a la que el ganado puede ser infectado de manera accidental no ha sido determinada, pero se presume que el ganado de todas las edades es susceptible a ésta infección y su presentación es dependiente de su exposición (Dubey y Fayer, 1986).

El grado de parasitismo va en aumento a la par con la edad, sin embargo la resistencia a ésta enfermedad no la dá la edad sino la carga parasitaria que adquiere (Munday, 1981).

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico analizado por Dubey (1989), Heydorn y Melhorn (1978) es obligadamente indirecto. Los estados sexuales se desarrollan únicamente en el hospedero definitivo (carnívoros) y los estados asexuales se desarrollan solamente en el hospedero intermediario (herviíboro). Los hospederos definitivos e intermediarios varían para cada especie de Sarcocystis (Dubey y Fayer, 1986).

Tres especies de Sarcocystis, Sarcocystis cruzi, Sarcocystis hirsuta, Sarcocystis hominis se sabe parasitan al ganado. Los hospederos definitivos para éstas especies son perros, gatos y humanos respectivamente. El hombre puede ser el hospedero de los

estados sexuales de Sarcocystis de bovinos y cerdos (Jones, 1983).

Se considera que el factor más importante para la dispersión de este parásito es la diseminación de ooquistes y esporoquistes que se encuentran en las heces del hospedero definitivo como vehículo (Dubey, 1986).

Los hospederos definitivos pueden ser infectados por la ingestión de tejido muscular o neural que contenga quistes maduros. Los bradizoitos contenidos en el quiste maduro se liberan durante el proceso de digestión, invaden el intestino delgado moviéndose activamente hacia los epitelios intestinales en los cuales los bradizoitos se diferencian en células precursoras de gametos denominadas macrogametos (gameto femenino) y microgametos (gameto masculino) en el epitelio intestinal.

En las veinticuatro horas posteriores a la fertilización los cigotos se diferencian a ooquistes y su maduración se lleva a cabo rápidamente en lámina propia del intestino delgado. Cada ooquiste contiene dos esporoquistes y a su vez cada uno de estos contiene cuatro esporozoitos. Los ooquistes y esporoquistes libres (debido a la ruptura de algunos ooquistes maduros) entran en el lumen intestinal y pasan a heces. El período de prepatencia del parásito en el hospedero definitivo es de 9 a 45 días.

El hospedero intermediario al ingerir los ooquistes y

esporoquistes por contaminación del ambiente, alimentos, suelo etc. induce la liberación de los esporozoitos por acción de enzimas y sales biliares en su intestino. Al ser liberados los esporozoitos son capaces de atravesar epitelio o mucosa intestinal incorporándose al torrente sanguíneo; entrando finalmente a células endoteliales y arterias de tamaño regular.

Los esporozoitos diferenciados de la primera generación dan origen a la primera esquizogonia (primera generación de merozoitos acumulados dentro de células endoteliales) en un lapso de siete días y se concluye a los quince. Una vez madura ésta esquizogonia se rompe liberando a los taquizoitos que son fase de reproducción rápida las cuales se dispersan por el torrente sanguíneo con una segunda invasión de células endoteliales que cubren capilares. Pueden observarse merozoitos mononucleados y binucleados en monocitos, lo que indica que se lleva a cabo un proceso de endodiogénea, optimizándose la proliferación de parásitos.

Las fases derivadas de la segunda generación de merozoitos (bradizoitos) son liberados y por medio de la corriente sanguínea pasan al proceso de enquistamiento dirigiéndose a células de músculo estriado (diafragma, esófago, corazón músculo esquelético, lengua) y tejido neural (nervio óptico, cerebro, médula espinal) ahí se inicia la formación de los complejos parasitarios, iniciándose con la colonización y formación de las células

progenitoras denominadas metrocitos, estos son capaces de generar las paredes externas e internas en el quiste, de manera que se forman septos que separan grupos de parásitos dentro de la estructura que es denominada cuerpo de Miescher. Los metrocitos mediante el proceso de endodiogénea se multiplican lentamente y originan fases ya diferenciadas denominadas bradizoitos.

Es importante mencionar que los hospederos definitivos pueden estar infectando permanentemente y desarrollando parásitos en su intestino, esto eleva las posibilidades de infección para los hospederos intermediarios, en forma constante sin importar la edad o estado inmunológico (Melhorn y Heydorn, 1978; Dubey y Fayer, 1986; Dubey y Fayer 1989).

PATOGENIA

Un parásito es un organismo que vive sobre o dentro de otro organismo vivo en donde logra obtener el medio y los nutrientes necesarios para su crecimiento y reproducción. La relación entre hospedero y parásito está determinada tanto por aquellas características de los parásitos que favorecen su establecimiento y que dañan al hospedero que se opone a estos procesos. Entre los atributos de los parásitos está la patogenicidad (Jawetz, 1983).

La patogenicidad es la capacidad potencial de un parásito para producir una enfermedad. El potencial patogénico varía ampliamente, no solo de un tipo a otro de parásito, sino también entre cepas del mismo género (Freeman, 1984).

En el caso de las tres especies del género Sarcocystis que parasitan al ganado (*cruzi*, *hirsuta*, *hominis*), solo se reporta como patógena a Sarcocystis cruzi (Melhorn, 1988).

La anemia es otro signo importante de la sarcocistosis aguda. Pueden presentarse hemorragias en el músculo esquelético y en las serosas y más notablemente en el corazón (Sttele, 1982). Gran cantidad de células sanguíneas son removidas de la circulación y destruidas en el bazo. La hemólisis es evidente por la elevación de los niveles de bilirrubina sérica.

La ascitis y el edema en tejidos son probablemente causados por la hiperproteínemia. Los niveles de albúmina sérica decrecen significativamente durante la sarcocistosis aguda (Dubey y Fayer, 1986).

La destrucción de endotelios de capilares de diversas vísceras se inicia en el hígado y se generaliza posteriormente a sistema nervioso central, suprarrenales e incluso a la pared intestinal y otras áreas, causando como respuesta la destrucción de paredes vasculares dándose una respuesta inflamatoria.

Al darse la organización y formación de los quistes en los diversos tipos de fibras musculares, se inicia la relación de Sarcocystis como parásito intracelular que al multiplicarse e incrementar su tamaño rebasa las dimensiones de las células hospederas causando la destrucción de los tejidos vecinos por presión provocando atrófia de estos. Se presenta miositis durante la penetración de los merozoitos a células musculares (Martínez, 1992).

El daño que causa el parásito en masas musculares se asocia con la denominada miositis eosinofílica y se caracteriza por la aparición de lesiones granulomatosas y una organización variable de los quistes que están rodeados por una intensa reacción inflamatoria (Jensen, 1986).

Al morir los quistes desencadenan el desarrollo de una inflamación crónica que conduce a la formación del granuloma que finalmente se calcifica (Jubb, 1985).

Se ha determinado que al entrar en la fase crónica de esta enfermedad se ven disminuidos los efectos del parasitismo lograndose así una adaptación perfecta entre Sarcocystis y los cambios que se presentan en las células del hospedador (Dubey y Fayer, 1989).

La sarcocistosis crónica se caracteriza por caquexia, atrófia

muscular, pérdida de peso (inapetencia), crecimiento lento, pérdida del pelo alrededor del cuello, nystagmus y muerte. Esta situación no es aún bien comprendida ya que los hallazgos de laboratorio en casos crónicos son normales y la inflamación en músculos y tejido nervioso son menos intensos que los casos de sarcocistosis subaguda (Dubey y Fayer, 1986).

En el caso de la sarcocistosis producida por Sarcocystis cruzi causa únicamente una ligera gliosis y las lesiones anatómicas no son prominentes. De igual forma la vasculitis no es un rasgo predominante de la presentación crónica.

Es posible que debido a la ruptura de los quistes de algunos Sarcocystis estos liberen sustancias tóxicas. Se ha comprobado que el extracto acuoso de bradizoitos es tóxico (Sarcotoxina) cuando se inocula en conejos. No es claro aún el papel que desempeña la sarcotoxina liberada por los quistes intactos y su relación con la sarcocistosis crónica.

La liberación de estas sustancias producidas por Sarcocystis estimulan el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) que se asocia con la fase final de los mecanismos patogénicos que afectarían el desarrollo de la musculatura de los animales (Dubey y Fayer, 1989).

Puede presentarse aborto y muerte fetal como resultado de la infección con especies patogénicas de Sarcocystis durante la etapa de gestación. La mecánica de producción de abortos es una condición

que hasta el momento no ha sido aclarada. Se considera que es consecuencia de la dispersión sistémica. Las posibilidades de infección congénita son muy reducidas condición que se ha demostrado experimentalmente, encontrándose el parásito en la placenta materna y en raras ocasiones en el feto o membranas fetales (Martínez, 1992).

La gravedad del padecimiento y el grado de infección tisular post mortem de casos inducidos experimentalmente aumentan con la magnitud de la dosis infecciosa. En infecciones naturales se ha encontrado contaminación masiva del alimento con oocistos fecales, pero no se ha esclarecido hasta que punto se parecen los casos naturales a los inducidos experimentalmente (Blood, 1986).

La sarcocistosis aguda no ha sido diagnosticada en humanos (Sttele, 1982). Aparentemente las fases esporogónicas en el intestino humano suelen ser poco patógenas (Beaver, 1986).

Algunas manifestaciones clínicas fueron observadas en cuatro casos que pudieron ser el resultado de estadios tempranos de la infección. Esto no es una evidencia que permita concluir que el estado quístico induzca patología en humanos o animales (Sttele, 1982).

Sin embargo se reportaron siete casos en los cuales la infección por Sarcocystis hominis causó debilidad muscular, dolor y

cansancio; hinchazón subcutánea en cinco casos; síntomas abdominales agudos, enteritis eosinófila necrosante segmentaria presentando una invasión masiva de fases esporogónicas de Sarcocystis en lámina propia en seis casos (Beaver, 1986); eosinofilia en dos casos; poliarteritis nodosa en dos casos y cardiopatía en un caso (Steele, 1982).

Las infecciones causadas por Sarcocystis en humanos se consideran autolimitadas y asintomáticas en la mayoría de los casos (Beaver, 1986).

CUADRO CLINICO

El cuadro clínico de la sarcocistosis en el hospedero intermediario usualmente se inicia entre cuatro y cinco semanas posteriores a la ingestión de esporoquistes infecciosos (Jensen, 1979).

La presentación aguda de esta enfermedad incluye fiebre, anorexia, pérdida de peso, retraso en el crecimiento, cojera, atrofia muscular, tremor y diarrea. Los datos de laboratorio para la sarcocistosis aguda indican anemia y daño tisular. El conteo de glóbulos rojos y la hemoglobina se encuentran un 75 % por debajo de los valores normales. Las concentraciones en plasma de lactato deshidrogenasa, alanina aminotransferasa, sorbitol deshidrogenasa y

urea (nitrógeno) en sangre tienen valores significativamente elevados. El volumen del paquete celular y concentración de proteínas séricas están disminuidos. Los valores de glucosa sérica, calcio y sodio están disminuidos. Los valores de potasio, magnesio y fósforo son normales.

Si el animal sobrevive a la fase aguda, comunmente continúa anorexia parcial, bajo peso y atrófia muscular. Se llegan a observar valores hematológicos normales aproximadamente uno o dos meses posteriores a la recuperación clínica (Braford, 1990).

El ganado con infección crónica puede presentar edema, pobre ganancia de peso, hiperexcitabilidad, hipersalivación, atrófia muscular, palidez, postración, pérdida de pelo, cadera y rabo caído, en algunos casos signos de afectación del sistema nervioso central incluyendo claudicación al caminar y en algunos casos la muerte. Si el animal está preñado en el segundo trimestre puede presentarse el aborto, también causa decremento en la producción de leche si el animal está en periodo de lactancia. Los datos de laboratorio muestran valores normales para el estado crónico de ésta enfermedad (Dubey y Fayer, 1986).

Normalmente en algunos hospederos definitivos (perro, gato, aves de presa), Sarcocystis causa una coccidiosis intestinal.

En el humano la infección producida por Sarcocystis hominis de

manera experimental se caracterizó por náuseas, dolor estomacal, y diarrea en un lapso de tres a seis horas después de la ingestión de la carne infectada. Los voluntarios excretaron esporocistos de entre 14 y 18 días posteriores a la ingestión de la carne contaminada (Dubey y Fayer, 1989).

LESIONES

El tipo de lesiones que puede causar Sarcocystis en el hospedador intermediario pueden clasificarse como :

Macroscópicas : En las necrópsias realizadas entre cuatro y cinco semanas posteriores a la infección, las lesiones de éste tipo son más notorias que en cualquier otro período de la infección. La hemorragia es evidente en la esclera de los ojos, en la superficie serosa de las vísceras (especialmente en la vejiga y retículo) y en todos los tejidos cardíacos y esqueléticos (Dubey y Fayer, 1989).

Se observa linfadenitis generalizada, esquizontes en el endotelio de vasos sanguíneos en la mayor parte de los órganos pero no en tejidos fetales. En condiciones naturales se ha encontrado que hay encefalomiелitis y mielomacia.

En bovinos infectados experimentalmente con Sarcocystis cruzi, se ha observado linfadenopatías, palidez de las mucosas y órganos

viscerales, ascitis, hidrotórax, hidropericárdia y atrófia serosa.. Equimosis o petequias en corazón, cerebro o serosa del tracto digestivo y vejiga urinaria (Quiroz, 1984).

Microscópicas : El más prominente cambio histológico durante la infección aguda y subaguda incluyen hemorragia seguida de moderada a severa infiltración de células mononucleares dentro de los tejidos perivasculares e intersticiales del corazón, músculos esqueléticos, hígado, pulmón, riñones y en menor extensión en otros órganos. La degeneración multifocal y áreas necróticas se hallan en su mayor proporción en el corazón, músculo esquelético y riñones. Los cambios en el sistema nervioso central y en ojos se caracterizan por hemorragias petequiales y ligera infiltración de células mononucleares. Los esquizontes pueden estar o no presentes o asociados a los cambios de los tejidos (Dubey y Fayer, 1986).

las lesiones en becerros consisten en la infiltración hemorrágica (linfocitosis primaria), edema en corazón, cerebro, hígado, pulmón, riñones y músculo estriado. Hay necrosis en miocardio con calcificación distrófica del músculo estriado y se observa inflamación no supurativa de las meninges y nódulos en cerebro (Quiroz, 1984).

La presentación de la respuesta celular y humoral en contra de los parásitos indica que estos son inmunogénicos para su hospedero. Con respecto a la inmunidad que Sarcocystis desencadena únicamente se conoce la interacción entre los bradizoitos y el hospedero. Mediante el Western Blott se ha determinado que los merozoitos y bradizoitos de Sarcocystis cruzi tienen proteínas similares entre las fases de esporozoitos y merozoitos (Dubey y Fayer, 1989).

La producción de anticuerpos en animales inoculados con Sarcocystis se detecta entre tres y cinco semanas de estar en contacto con los parásitos mediante hemaglutinación pasiva, ELISA, inmunofluorescencia y fijación del complemento.

Existe una reducción del título de anticuerpos probablemente relacionada con la calcificación de los quistes en infecciones crónicas (Quiroz, 1984).

La respuesta celular esta mediada por linfocitos y macrófagos que se infiltran en la zona de implantación de los parásitos a partir de la tercera semana de infección y pueden permanecer durante mucho tiempo en éste sitio (Dubey y Fayer, 1989).

El mecanismo que se desencadena con la respuesta celular interviene en la recuperación del hospedero y es un fenómeno aún no explicado. Tampoco se ha demostrado la transferencia de inmunidad pasiva a la descendencia (Munday, 1982).

Se ha observado que los sarcosporidios son resistentes a la respuesta inmune del hospedero y no hay evidencia de una respuesta inmune capaz de protegerlo (Quiroz, 1984).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la sarcocistosis no es simple y acertado en todos los casos ya que las lesiones que se presentan en el hospedero intermediario pueden parecerse a las de otras diez enfermedades y en los casos agudos, el hallazgo de los parásitos no es factible.

No se han desarrollado pruebas serológicas de tipo comercial que permitan la identificación del parásito. Además debe de considerarse que un elevado porcentaje de la población infectada presenta los quistes en su musculatura (Dubey y Fayer, 1989).

El diagnóstico diferencial de la sarcocistosis bovina se basa en una adecuada evaluación epidemiológica del ganado y su relación con otros animales (especialmente perros), la evaluación

serológica, pruebas de laboratorio y la demostración de quistes en músculo mediante la realización de biopsias (Bradford, 1990).

Un diagnóstico presuntivo de la sarcocistosis aguda puede llevarse a cabo mediante la práctica de pruebas de laboratorio que indiquen los signos clínicos característicos del cuadro : anemia, anorexia, fiebre, excesiva salivación, pérdida de pelo del cuello, incrementos en los niveles de LDH, CPK, nitrógeno uréico sanguíneo, y bilirrubina entre otros.

El diagnóstico postmortem puede realizarse observando las características de las lesiones presentes tales como hemorragias (especialmente en músculos) acompañada de una inflamación y otras características de la sarcocistosis aguda (Dubey y Fayer, 1989). En la necropsia es necesario diferenciar la enfermedad de septicemia de cualquier tipo y de otros procesos como intoxicación por helechos caracterizados por hemorragia profusa en serosas (Blood, 1986).

En cortes histológicos Sarcocystis puede diferenciarse de Toxoplasma gondii y otros coccidios cercanos debido a que el núcleo excéntrico de Toxoplasma no es demostrable en Sarcocystis; además los esquizontes de Sarcocystis se encuentran libres en el citoplasma celular a diferencia de Toxoplasma que se encuentran siempre incluidos en vacuolas parasitóforas en cualquier célula (Dubey y Fayer, 1989) (Jones, 1983).

El diagnóstico en casos de aborto puede realizarse si se examina el tejido fetal ya que Sarcocystis produce gliosis y necrosis placentar.

El hallazgo de esporoquistes en heces es un parámetro que ayuda en la determinación de la procedencia de la infección. Los esporoquistes son relativamente pequeños (15 x 10 μ m) comparados con otros coccidios. Pueden emplearse las técnicas de flotación para su observación en el microscopio óptico (Dubey y Fayer, 1989).

En el humano el diagnóstico de la infección causada por Sarcocystis se realiza por el hallazgo de esporoquistes característicos en las heces. Los métodos de concentración para el examen de las heces facilitan la búsqueda (Beaver, 1986).

CONTROL Y PREVENCIÓN

El control de ésta enfermedad es difícil ya que entraña la separación de perros y ganado, lo cual en la mayor parte de los casos no es posible (Blood, 1986).

El mejor método para el control de la sarcocistosis es prevenir la contaminación con heces de carnívoros de los alimentos que consumen los bovinos y los pequeños rumiantes (Quiroz, 1984). No obstante la infección en los carnívoros puede evitarse si la

carne que consumen es cocida cuidadosamente (Blood, 1986).

Hasta el momento no se conoce un producto biológico que permita prevenir la enfermedad, pero la dosificación con pequeñas cantidades de esporoquistes pueden inducir respuestas inmunes que reducen el riesgo de infecciones agudas (Dubey y Fayer, 1989).

La prevención de la sarcocistosis también puede lograrse implementando medidas tales como :

a) Enterrar o incinerar animales muertos; siendo esto importante a nivel de los carnívoros en el campo.

b) Las tarimas que contengan el alimento se recomienda que se haga una adecuada limpieza de ellas y que se encuentren elevadas aproximadamente de 1 a 3 pies del suelo (Blood, 1986).

c) Llevar a cabo en lo posible un control sanitario de los sitios de pastura del ganado (Quiroz, 1984).

d) La carne consumida por los carnívoros puede ser sometida a congelación, esto reduce de manera importante las cantidades de quistes viables en ella (Dubey y Fayer, 1986).

La prevención en el humano es una medida sencilla ya que el consumo de carne delicadamente cocida evita en un alto grado la posibilidad de infección, si la carne esta contaminada.

El control de la dispersión de la sarcocistosis por el humano se puede llevar a cabo evitando defecar al aire libre o en sitios que favorezcan la dispersión y contaminación del alimento destinado para el ganado.

TRATAMIENTO

Experimentalmente la terapia con Amprolium o antibióticos ionóforos posterior al segundo estado de parasitemia frecuentemente previene el desarrollo de la sarcocistosis clínica (Bradford, 1990).

Las drogas anticoccidiales como Amprolium y Salinomycin pueden ser efectivas para el tratamiento de los estados prequísticos de la sarcocistosis de manera experimental (Sttele, 1982).

Se ha utilizado Amprolio 100 mg/Kg en bovinos infectados experimentalmente con Sarcocystis, observándose una disminución del daño causado por Sarcocystis cruzi (Quiroz, 1984).

El forraje con monensina 100 mg/ Kg (diarios, durante treinta días) en el período de incubación de la infección, protege al ganado infectado experimentalmente del desarrollo de los signos clínicos. El fármaco puede ser administrado continuamente de 2 a 5

semanas posteriores a la exposición (Jensen, 1979).

Se ha demostrado que el principio activo más efectivo para el tratamiento de la sarcocistosis es la Halofuginona (Voigt y Heydorn 1981).

Ningún tratamiento profiláctico ni terapéutico para los carnívoros previene el desarrollo de los esporoquistes infecciosos (Dubey y Fayer, 1986).

En el hombre, una terapia combinada con Primetamina o nitrofurantoina puede curar la infección crónica (Agrawal, 1976).

No se conoce aún un tratamiento para el hombre infectado intramuscularmente con Sarcocystis (Sttele, 1982).

OBJETIVOS

- A) Determinación de especies del género Sarcocystis en bovinos.
- B) Determinación de la distribución anatómica en bovinos de especies del género Sarcocystis en los tejidos colectados.
- C) Determinación de la distribución porcentual de especies del género Sarcocystis en bovinos.
- D) Determinación de la especie zoonótica de este género (Sarcocystis hominis).

MATERIAL Y METODO

-Recolección de muestras

Se tomaron 50 muestras de cada uno de los siguientes tejidos : esófago, diafragma, corazón y lengua de bovinos sacrificados en el Rastro de Tlalnepantla México.

-Toma de las muestras

Se realizaron cortes de tejido muscular de esófago, diafragma, corazón y lengua de aproximadamente 1 x 1 x 0.5 cm.

PROCESAMIENTO HISTOLOGICO

A) Fijación : Para llevar a cabo éste proceso, las muestras se colocaron en frascos que contenían nueve partes de solución fijadora de Bouin por una parte de tejido. Las muestras permanecieron 24 horas en la solución fijadora para favorecer la penetración de la misma en los tejidos.

La fijación de los tejidos tiene como finalidad poner de manifiesto el sustrato morfológico y otro tipo de estructuras tales como las parasitarias, probablemente presentes en los tejidos

asegurando su conservación en un estado lo más parecido al estado vivo preparandolo así para posteriores tratamientos, actuando como mordiente (Martoja, 1970) (Hernández, 1990).

B) Lavado de las muestras : El lavado de las muestras se realizó en cápsulas metálicas, durante 24 horas con agua corriente (en forma continua) para remover los restos de solución fijadora y evitar así la precipitación de sales.

Una vez lavadas las muestras se transfirieron a frascos que contenían solución de alcohol al 70 % para su conservación hasta el momento de la deshidratación.

C) Deshidratación : El proceso de deshidratación de las muestras se llevó a cabo en el Histokinette del laboratorio de Histología de la FESC-C4.

Las muestras fueron sumergidas en los siguientes reactivos durante el tiempo y temperatura indicado para cada uno :

REACTIVO	TIEMPO	TEMPERATURA
Alcohol 70°	2 horas	Ambiente
Alcohol 70°	2 horas	Ambiente
Alcohol 80°	2 horas	Ambiente
Alcohol 80°	2 horas	Ambiente
Alcohol 96°	2 horas	Ambiente
Alcohol 96°	2 horas	Ambiente
Alcohol absoluto	2 horas	Ambiente
Alcohol abs./Acetona	2 horas	Ambiente
Benceno	2 horas	Ambiente
Benceno	2 horas	Ambiente

D) Infiltración: Las muestras en benceno se transfieren a parafina a una temperatura de 57°C durante una hora. Posteriormente se sumergen en parafina a 50° durante doce horas. Este paso se realiza en el Histokinnete.

La inclusión de las muestras se realiza con parafina a 60°C. En cada bloque se colocó una muestra de cada uno de los tejidos (esófago, diafragma, corazón y lengua), obteniendose 50 bloques total. Cada bloque se identificó numerandose en forma progresiva del 1 al 50.

E) Corte : El exceso de parafina en los bloques se eliminó mediante cortes sucesivos con la cuchilla. Las muestras se cortaron con un grosor de 6 μ . Se utilizó para este proceso el Microtomo del

F) Montaje : Después del corte las muestras fueron llevadas al baño de flotación de tejidos el cual contenía agua destilada y grenetina a una temperatura de 35-40°C. Al ir obteniendo las las extensiones totales de los cortes se procedió a colocarlos en los portaobjetos previamente impregnados con albúmina de Mayer.

Para derretir la parafina que contenían los cortes y obtener una óptima adherencia al portaobjetos, estos se colocaron en la platina de calentamiento a una temperatura de 40-45°C durante 10 minutos como mínimo.

G) Tinción Hematoxilina-Eosina : Los cortes fueron teñidos de la siguiente manera:

- Dos pasos de xileno de 5 minutos cada uno.
- Dos pasos de alcohol absoluto de 5 minutos cada uno.
- Dos pasos de alcohol de 96° de 5 minutos cada uno.
- Dos pasos de alcohol de 80° de 5 minutos cada uno.
- Dos pasos de alcohol de 70° de 5 minutos cada uno.
- Un paso de alcohol de 50° durante 5 minutos.
- Un paso de alcohol de 25° durante 5 minutos.
- Lavado con agua destilada
- Hematoxilina según Harris durante 5 minutos.
- Lavado con agua corriente hasta que vire a azul.

- Sumergir en alcohol ácido y sacar rapidamente
- Lavado con agua corriente
- Solución de carbonato de Litio durante 1 minuto.
- Lavado con agua corriente durante 15 minutos.
- Enjuagar con agua destilada.
- Solución de eosina un minuto.
- Lavado rápido en alcohol de 96° (dos pasos).
- Dos pasos de alcohol absoluto de 5 minutos cada uno.
- Dos pasos de xileno de 5 minutos cada uno.

-Una vez concluida la tinción, se limpiaron las laminillas y se les adicionó una gota de resina para adherir el cubreobjetos (conservación).

-Cada una de las preparaciones fué revisada en el microscopio óptico identificandose los quistes y haciendose conteo de ellos.

La diferenciación de las especies detectadas se llevó a cabo tomando en cuenta las siguientes características de la pared de los quistes :

La pared de Sarcocystis cruzi es delgada ($< 1 \mu$), es una superficie larga cubierta de una estrecha banda de proyecciones o protuberancias. Las protuberancias miden $3.5 \mu\text{m}$ de longitud y $0.3 \mu\text{m}$ de ancho de la base. La superficie de la pared tiene numerosas invaginaciones pequeñas las cuales son hexagonales, cuando son

vistas desde la superficie (Dubey y Fayer, 1989).

¶

La pared de Sarcocystis hominis es gruesa, su espesor es superior a los 6 μm y está radialmente estriada, debido a las numerosas protuberancias, las cuales miden arriba de los 7 μm de longitud y 0.7 μm de ancho (Dubey y Fayer, 1989).

-Los datos obtenidos se organizaron en forma de tablas.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

Realizada la observación, conteo e identificación de quistes con el microscopio óptico de las especies de Sarcocystis encontradas, se eligieron las muestras más representativas para llevar a cabo su estudio con el Microscopio Electrónico de Barrido.

A) Se procedió a desparafinar los bloques que contenían las piezas seleccionadas exclusivamente. Las piezas desparafinadas extraídas de los bloques se colocaron en diferentes mezclas de benceno-alcohol de la siguiente manera :

MEZCLA	TIEMPO	TEMPERATURA
75 benceno/25 alcohol	15 minutos	50-55°C
50 benceno/50 benceno	15 minutos	50-55°C
75 alcohol/25 benceno	15 minutos	50-55°C
Alcohol absoluto		Ambiente

Este paso se realiza con la finalidad de eliminar toda la parafina que pudiesen contener las piezas de los tejidos seleccionados.

B) Las piezas en alcohol absoluto se les adicionó agua destilada en forma ascendente para llevar a cabo su hidratación :

-Mezcla 75 alcohol absoluto/25 agua destilada.

-Mezcla 50 alcohol absoluto/50 agua destilada.

-Mezcla 25 alcohol absoluto/75 agua destilada.

-Agua destilada

La hidratación de las piezas se realizó a temperatura ambiente, el tiempo entre cada cambio fué de 10 minutos para cada uno.

C) Cuatro de las piezas fueron lavadas con buffer de fosfatos de pH = 7.2 (3 veces cada 15 minutos). Las cuatro piezas restantes fueron lavadas con solución salina tamponada con fosfato (3 veces cada hora).

D) La post-fijación con tetróxido de osmio del 1-2 % en amortiguador de acetato de veronal con un pH de 7.3 a 7.5 se realizó adicionando 5 ml de este reactivo a cada una de los frascos que contenían las piezas dejandose reposar durante 2 horas. La adición de éste reactivo se llevó a cabo con la finalidad de

contrastar las estructuras presentes en las piezas de tejido.

E) Cuatro de las piezas fueron lavadas con Buffer de fosfatos con $\text{pH} = 7.2$ (3 veces cada 20 minutos). Las cuatro piezas restantes se lavaron con solución tamponada con fosfato (3 veces cada 20 minutos).

F) Posteriormente se realizó la deshidratación de las piezas adicionandoles alcoholes a 4°C en graduación ascendente, iniciando con alcohol al 30° y finalizando con alcohol absoluto dejando entre cada cambio de alcohol 10 minutos. Las muestras se conservaron en alcohol absoluto hasta que se realizó la deshidratación a punto crítico.

G) La deshidratación a punto crítico de las piezas se llevó a cabo en el aparato Samdri-780A del Laboratorio de Microscopia Electrónica de la FESC-C1. Este paso se realizó para eliminar el alcohol presente en las piezas, además evita los efectos de tensión superficial sobre el tejido. El agente desecante que se empleó fue el CO_2 .

H) Una vez concluida la deshidratación a punto crítico, las muestras son llevadas a la cámara evaporadora en donde bajo condiciones especiales se recubrieron con una capa de oro de aproximadamente 100 nm. El recubrimiento de las piezas se realizó con el Fine coat JEOL del Laboratorio de Microscopia Electrónica de

la FESC-C1. La finalidad primordial de cubrir las muestras mediante éste método de ionización de los metales, es la de prevenir o reducir apreciablemente las cargas electricas sobre la superficie del tejido, evitando así la distorsión de la imagen, aumenta la emisión de electrones secundarios de baja energía, los cuales son responsables del contraste de la imagen en el MEB.

I) Cada una de las piezas fué llevada a la cámara del MEB del Laboratorio de Microscopia Electrónica de la FESC-C1; ahí se procedió a enfocar y posteriormente se revisaron cada una de ellas a distintas magnificaciones. Se eligieron las piezas en las cuales se encontraron los quistes de interés para este estudio.

J) Se tomaron fotografías a diferentes magnificaciones de los quistes seleccionados con anterioridad en algunas de las piezas de tejidos, para el posterior análisis de sus características morfológicas.

RESULTADOS

En las 50 muestras de tejido (esófago, diafragma, corazón y lengua) de bovinos se determinó la presencia de dos especies del género Sarcocystis : Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis.

Las figuras 1 y 2 muestran la distribución anatómica y porcentual en esófago, corazón (foto número 1 y 9) de Sarcocystis cruzi y diafragma (foto número 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8) de Sarcocystis hominis.

El número total de quistes de Sarcocystis cruzi en tejidos de bovino (esófago, diafragma, corazón y lengua) es de 534 (foto número 1 y 9).

El número total de quistes de Sarcocystis hominis en tejidos de bovino (esófago, diafragma, corazón y lengua) es de 7 (foto número 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8).

En las figuras 3 a 6 se muestra la distribución anatómica y porcentual de las especies de Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis respectivamente en tejidos de bovino.

TEJIDO	No. de Quistes	% de Quistes
Esófago	75	14.04
Diafragma	96	17.97
Corazón	310	58.05
Lengua	53	9.92

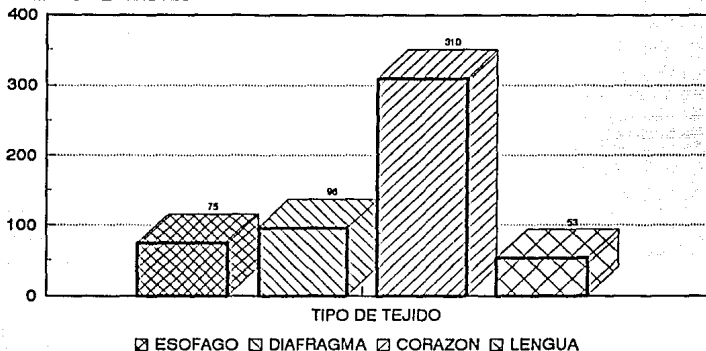
FIGURA No. 1. Distribución anatómica y porcentual de Sarcocystis cruzi en tejidos de bovino.

TEJIDO	No. de Quistes	% de Quistes
Esófago	1	14.28
Diafragma	5	71.42
Corazón	1	14.28
Lengua	0	0

FIGURA No. 2. Distribución anatómica y porcentual de Sarcocystis hominis en tejidos de bovino.

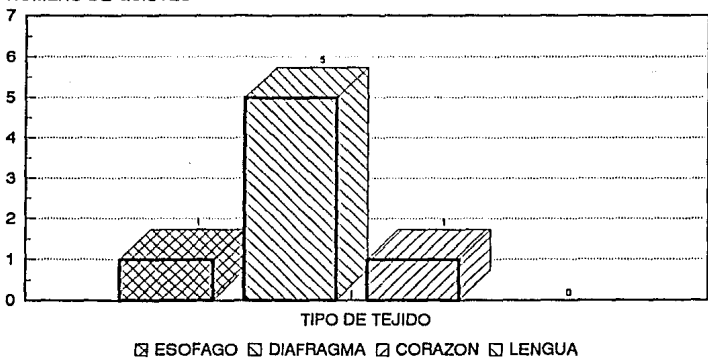
**DISTRIBUCION ANATOMICA DE "Sarcocystis cruzi"
EN ESOFAGO, DIAFRAGMA, CORAZON Y LENGUA
FIGURA 3**

NUMERO DE QUISTES

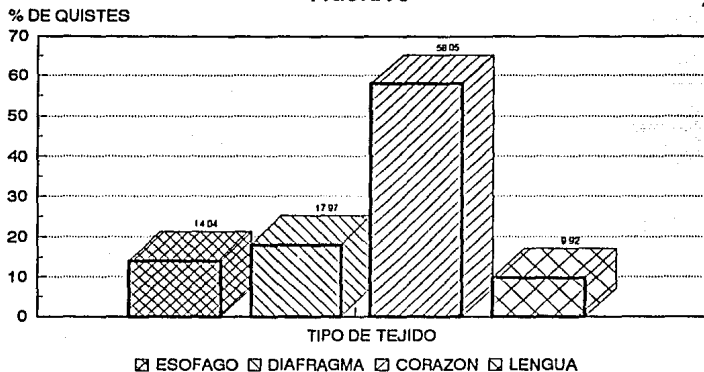


**DISTRIBUCION ANATOMICA DE "Sarcocystis hominis"
EN ESOFAGO, DIAFRAGMA, CORAZON Y LENGUA
FIGURA 4**

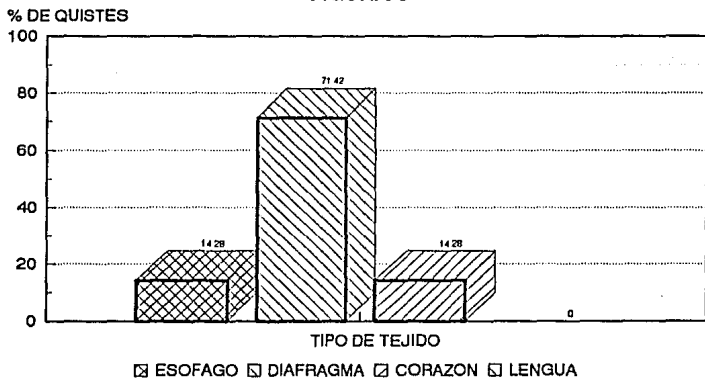
NUMERO DE QUISTES

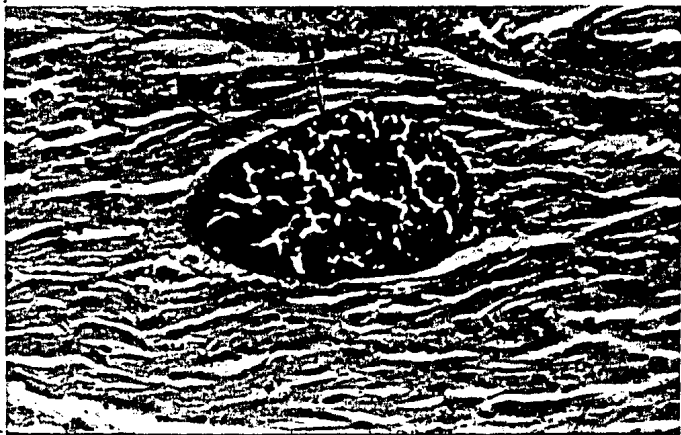


**DISTRIBUCION PORCENTUAL DE "Sarcocystis cruzi"
EN ESOFAGO, DIAFRAGMA, CORAZON Y LENGUA
FIGURA 5**



**DISTRIBUCION PORCENTUAL DE Sarcocystis hominis
EN ESOFAGO, DIAFRAGMA, CORAZON Y LENGUA
FIGURA 6**

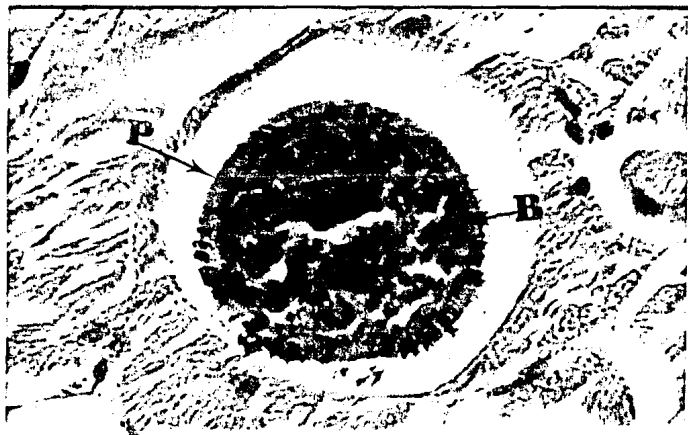




Fotografía número 1.-Cuerpo de Miescher de Sarcocystis cruzi (40x). Corazón de bovino. Microscopia óptica.

P : Pared que mide 1 μ de ancho, constituida por tabiques cortos.

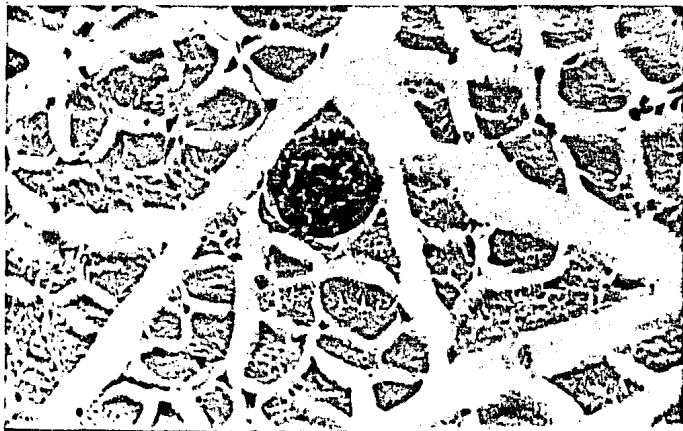
B : Bradizoitos.



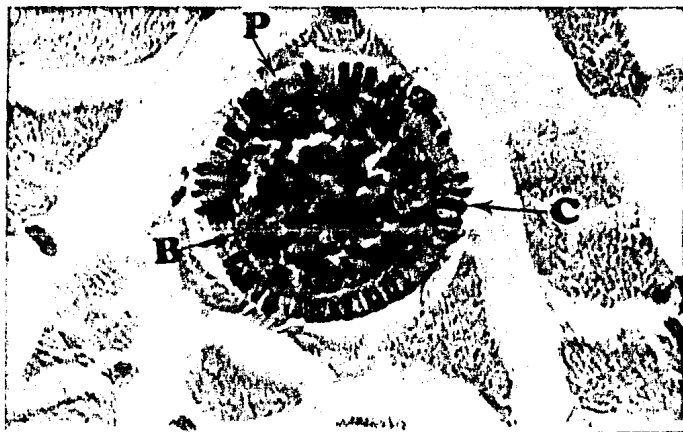
Fotografía número 2.-Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis (40x). Diafragma de bovino. Microscopia óptica.

P : Pared que mide 1 μ de ancho, constituida por tabiques largos.

B : Bradizoitos



Fotografía número 3.-Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis (10x). Diafragma de bovino. Microscopía óptica.

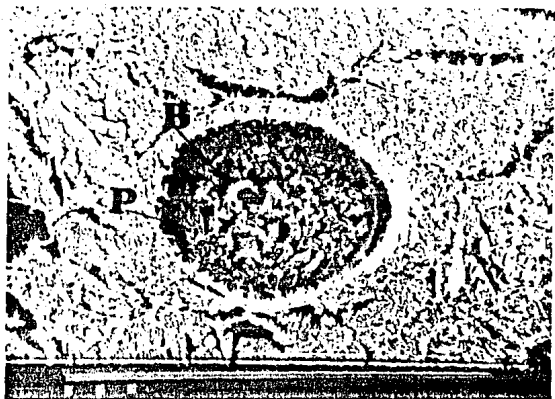


Fotografía número 4.- Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis (40x). Diafragma de bovino. Microscopia óptica.

P : Pared que mide 7.5μ de ancho, constituida por tabiques largos.

B : Bradizoitos

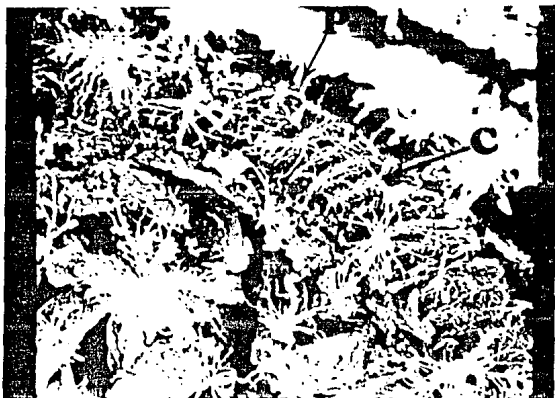
C : Citofaneras



Fotografía número 5.- Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis (700x). Diafragma de bovino. Microscopia electrónica de barrido.

P : Pared que mide 7.5μ de ancho, constituida por tabiques largos.

B : Bradizoitos



Fotografía número 6.-Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis (4500x). Diafragma de bovino. Microscopia electrónica de barrido.

P : Pared que mide 7.5 μ de ancho, constituida por tabiques largos.

C : Citofaneras



Fotografía número 7.-Cuerpo de Miescher de Sarcocystis hominis(4500x). Diafragma de bovino. Microscopía electrónica de barrido.

P : Pared que mide 7.5 μ de ancho, constituida por tabiques largos.



Fotografía número 8.-Bradizoitos de Sarcocystis hominis (4500x). Diafragma de bovino. Microscopia electrónica de barrido.

B : Bradizoitos.



Fotografía número 9.- Cuerpo de Miescher de Sarcocystis cruzi (4500x). Corazón de Bovino. Microscopia electrónica de barrido.

P : Pared que mide 1 μ de ancho, constituida por tabiques cortos.

B : Bradizoitos

D I S C U S I O N

Se detectó por primera vez en México la presencia de dos especies de Sarcocystis de los bovinos: Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis, en esófago, diafragma, corazón y lengua de material obtenido en el Rastro de Tlalnepantla, Estado de México.

Las especies ya reportadas en México son: Sarcocystis arieticanis, Sarcocystis tenella en ovinos y Sarcocystis capracanis en caprinos, siendo éstas un número reducido en comparación con lo reportado en la literatura internacional.

La distribución anatómica y porcentual de Sarcocystis cruzi indica que en el tejido cardiaco se presenta el porcentaje más elevado (58.05 %) y en orden decreciente, diafragma (17.97 %), esófago (14.04 %) y lengua (9.92 %). El número total de quistes hallados de esta especie es de 534.

En el caso de la distribución anatómica y porcentual de Sarcocystis hominis indica que en el diafragma se presenta el porcentaje más elevado (71.42 %). En esófago y tejido cardiaco existen porcentajes semejantes de ésta especie (14.28 %). En lengua no se detectó la presencia de Sarcocystis hominis. El número total de quistes hallados de esta especie es de 7.

número de quistes hallados de Sarcocystis cruzi (534), es notablemente más elevado que el de Sarcocystis hominis (7); por lo que no puede aseverarse con certeza si en función de la especie se determina la distribución anatómica de Sarcocystis, o bien si son características que se presentan de manera independiente.

La frecuencia de Sarcocystis cruzi es notablemente más elevada que la de Sarcocystis hominis, lo cual concuerda con lo citado en el cuadro número dos.

El hallazgo de las especies de Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis, indica que existen mecanismos que favorecen la transmisión de Sarcocystis, al hospedero intermediario (bovinos) es decir la contaminación de los alimentos o de los sitios de pastoreo por medio de heces de humanos o de perros (hospederos definitivos).

Con respecto a estos factores que intervienen en los mecanismos de transmisión debemos considerar de que manera se propicia su aparición y desarrollo. Los perros que son alimentados con vísceras y carne cruda contaminada con Sarcocystis adquieren en la mayoría de los casos la infección, e inician el ciclo biológico de éste parásito, eliminando por medio de las heces los esporoquistes u ooquistes que son la fase infectante de Sarcocystis del bovino.

El humano adquiere ésta infección por la ingesta de carne cruda o mal cocida y de igual manera elimina por medio de las heces esporoquistes u ooquistes siendo ésta la fase infectante para el bovino. En 1972 Romel y Heydorn confirman en base a estudios ya reportados anteriormente que la ingestión de carne vacuna cruda

de éste parásito, eliminando por medio de las heces los esporoquistes u ooquistes que son la fase infectante de Sarcocystis del bovino.

El humano adquiere ésta infección por la ingesta de carne cruda o mal cocida y de igual manera elimina por medio de las heces esporoquistes u ooquistes siendo ésta la fase infectante para el bovino. En 1972 Romel y Heydorn confirman en base a estudios ya reportados anteriormente que la ingestión de carne vacuna cruda contaminada con Sarcocystis hominis producen infecciones en humanos (Beaver, 1986).

Las infestaciones de ambos hospederos definitivos pueden ocurrir sin limitaciones siendo este un factor que incrementa el riesgo de infección en los hospederos intermediarios.

En general la especie más frecuente en bovinos es Sarcocystis cruzi, así comotambién se menciona quees la más patógena en comparación con las otras dos especies reportadas en bovinos : Sarcocystis hominis y Sarcocystis hirsuta.

La especie que no se detectó en éste estudio fué Sarcocystis hirsuta . Es probable que esto se deba a que es una especie menos frecuente que Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis como lo indica la literatura (cuadro número 2) (Dubey y Fayer, 1989).

En el sur de Alemania se reportó que un 99.7 % de 1007 bovinos sacrificados, de distintos grupos de edad y de ambos sexos albergaban cuerpos de Miescher, determinando que aproximadamente dos tercios de las infecciones eran causadas por Sarcocystis hominis adquirida por contaminación fecal humana de alimentos o agua, un porcentaje igual habían adquirido la infección por Sarcocystis cruzi a partir de heces de perro y alrededor de un tercio se encontraban infectados por Sarcocystis hirsuta por contaminación con heces de gato (Beaver, 1986).

Otro factor que influye en el resultado negativo al hallazgo de Sarcocystis hirsuta, es el número de muestras colectadas que en éste caso no fué adecuado como para detectar dicha especie. Es importante considerar que las diversas zonas geográficas en donde puede presentarse la Sarcocistosis poseen características diferentes que favorecen o dificultan la transmisión de Sarcocystis.

C O N C L U S I O N

La realización de este trabajo permitió detectar la presencia de dos especies de Sarcocystis en bovinos : Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis en esófago, diafragma, corazón y lengua de material obtenido en el Rastro de Tlalnepantla Estado de México.

Por vez primera se reporta en México el hallazgo de Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis en bovinos.

Las especies de Sarcocystis : Sarcocystis cruzi y Sarcocystis hominis se caracterizaron mediante microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido considerandose evidencia suficiente para llevar a cabo la diferenciación de la estructura de la pared de cada una de las especies.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- AGRAWAL, V. R. GRUPTA, O. P. and NIGMAN, S. P; 1976;
Sarcocistosis infection in man. Jour. Assoc. Phys. Ind;
24 : 115-117.
- 2.- AMSTUTZ, E. H. Bovine Medicine and Surgery. 2^{da} ed. U.S.A.,
1980 Edit. American Vet. Publication INC.
- 3.- BEAVER, C. P. Parasitología Clínica. 2^{da}ed. Barcelona, 1986
Edit. Salvat.
- 4.- BLOOD, C. D. and HENDERSON, A. J. Medicina Veterinaria.
6^{ta}ed. México, 1986 Edit. Interamericana.
- 5.- BRADFORD, P. S. Large Internal Animal U.S.A., 1990 Edit. C.
V. Mousby Company.
- 6.- DUBEY, J. P. and FAYER, R. 1983; Sarcocistosis; B. Vet. J.,
139 : 371-377.
- 7.- DUBEY, J.P. and FAYER, R. 1986; Bovine sarcocistosis
Compendium on continuing education for practicing
veterinarian 9: 12 F-130-142.
- 8.- DUBEY, J. P. and FAYER, R. Sarcocistosis of animals and man.
Florida, 1989 Edit. SRC Press INC.

- 9.- FREEMAN, B. A. Tratado de microbiología de Burrows 21^{ava}ed. México, 1984 Edit. Interamericana.
- 10.- HERNANDEZ, S. M. Manual de laboratorio (citología y citogenética) México, 1990 Edit. Trillas.
- 11.- JAWETZ, E. Microbiología médica. 10^{ma}ed. México, 1983 Edit. El manual moderno.
- 12.- JEFFREY, H. C. 1974; Sarcosporidiosis in man Trans. R. Soc. Med. Hyg. 68 (1) : 17-29.
- 13.- JENSEN, R. Disease of feedlot cattle. 3^{era}ed. Philadelphia, 1979 Edit. Lea & Febiger.
- 14.- JENSEN, R. 1986; Eosinophilic myositis and muscular Sarcocystis in the carcasses slaughtered cattle and lambs. Am. J. Vet. Res. 47 (3) : 587-593.
- 15.- JONES, C. T. Veterinary pathology. 5^{ta}ed. U.S.A., 1983 Edit. Lea & Febiger.
- 16.- JUBB, F. V. Pathology of domestic animal. VOL I 3^{era}ed. U.S.A., 1985 Edit. Academic Press INC.
- 17.- LEVINE, N. D. and TADROS, W. 1980; Named species and host of Sarcocystis (Protozoa apicompleja : Sarcocistidae) Sistematic Parasitology; 2: 41-59.

- 18.- MARTINEZ, L. J. Sarcocistosis de los pequeños rumiantes México, 1992 FES-Cuautitlán.
- 19.- MARTOJA, R. Técnicas de histología animal. España, 1970 Edit Toray Masson.
- 20.- MELHORN, H. Parasitology in focus, facts and trends. Germany, 1988 Edit. Springer Verlag.
- 21.- MELHORN H. and HEYDORN A.O. 1978; The sarcosporidia (Protozoa, sporozoa. Life cycle and fine structure) Adv. Parasitol 16 : 43-72.
- 22.- MUNDAY, B. L. 1981; Premature parturition in ewes inoculated with Sarcocystis ovicanis Vet. Parasitol; 9 : 17-26.
- 23.- MUNDAY, B. L. 1982; Effects of preparturent inoculation of pregnant ewes with Sarcocystis ovicanis upon the susceptibility of their progeny Vet. Parasitol 9: 273-276.
- 24.- NOBLE, R. E. Parasitology : The biology of animal parasites. 6^{ta}ed. U.S.A., 1989 Edit. Lea & Febiger.
- 25.- QUIROZ, R. H. Parasitología y enfermedades parasitarias en animales. México, 1984 Edit. Limusa.
- 26.- SOULSBY, L. J. Helminths, arthropods and protozoa of domestical animals. 7^{ma}ed. U.S.A., 1982 Edit. Lea & Febiger.

- 27.- STEELE H. J. Handbook series in zoonoses VOL II. Florida, 1982 Edit. CRC Press.
- 28.- VOIGHT, P. W. and HEYDORN A. O. 1981; Chemotherapy of sarcosporidiosis and thelariosis in domestic animals Zbl. Bakt HigA 250 : 256-259.