TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS - LA PLATA - BIBLIOTECA

OBSERVACIONES SOBRE SARCOSPORIDEOS QUE AFECTAN A BOVINOS Y CANIDOS DOMESTICOS: Incidencia, aspectos morfológicos y bionómicos; relaciones ontogenéticas.

Postulante: Carlos Alberto VIZIO

Médico Veterinario

Egresado de la F. C. V.

de la U. N. L. P.

Fecha de Egreso: 06-08-79.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

RECTOR

ING. QCO. RAUL ADOLFO PESSACQ

SECRETARIO GENERAL

ING. QCO. PABLO OSCAR LUCHESSI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS

ABOGADO CARLOS ALBERTO RAIMUNDI

SECRETARIO DE ASUNTOS LEGALES

DR. HUGO JORGE PACHECO

SECRETARIO DE ASUNTOS ECONOMICOS - FINANCIEROS

CONT. ALDO HUGO ROSSI

SECRETARIA DE EXT. CULTURAL Y DIFUSION

PROF. MARIA CONCEPCION ORRUMA

GUARDA SELLOS

ING. ANDRES RINGUELET

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

DECANO NORMALIZADOR

MED. VET. ALBERTO R. DIBBERN

VICEDECANO

MED. VET. HORACIO NORBERTO GARCIA VALENTI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS

MED. VET. ESTEBAN URANGA

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA

SR. OMAR HUGO RAMIREZ

DIRECTORA DE ENSEÑANZA

SRA. HAYDEE C. R. DE REPETTO

DIRECTORA DE BIBLIOTECA

SRA. MARTA BERNARDI

DIRECTOR ECONOMICO - FINANCIERO

SR. HECTOR S. MOREIRA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

NOMINA DEL PERSONAL DOCENTE POR CATEGORIAS

PROFESOR TITULAR "DEDICACION EXCLUSIVA"

ANGULO, Eusebia	Investigadora	Titular
CARROZZA, Jesús S.W.	Int. a la Biofísica	Titular
GALLO, Guillermo G.	Clín.Grand. Animales	Titular
MARTIN, Alcides A.	Anat. y Fisiol. Patológ.	Titular
MENENDEZ, Néstor A.	Patol. Aves y Pilíf.	Interino
PRACCA, Lydia C.	Clín. Pequeños Animales	Titular
QUINTEROS, Indalecio R.	Genética y Biometría	Titular
ZACCARDI, Eduardo M.	Fisiología	Titular

PROFESOR TITULAR "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

AGUIRRE, Walter G.	Microbiol. Especial	Titular
ALBERDI, Cecilio	Tecnol. y Sanid. Alim.	Titular
ANDREATTA, Jorge N.	Semiología y Proped.	Titular
BERTOLINI, José M.	Anatomía Comparada	Interino
DELPRATO, Ismael O.	Anat. Descriptiva y Top.	EMERITO-c/1.
GIMENO, Emilio J.	Higiene E. y S. Pública	Titular
JENSEN, Alicia D.	Bioestadística	Titular
LED, Jorge E.	Parasit. y Enferm. Par.	Interino-c/1.
MAROTTA, Eduardo G.	Zootec. Espec. I Parte(OSC)	Titular
MAROTTA, Eduardo G.	Director Inst. S. Catalina	Interino
OTTINO, Julio F.	Histología y Embriología	Interino
PENNIMPEDE, Enrique F. F.	Inmunolog. Gral. y Aplicada	Titular
PIOVANO, Nicolás M.	Int. a la Bioquímica	Titular
RODRIGUEZ, Benjamín R.	Zootec. Espec. II Parte(ByE)	Titular
SCIAMMARELLA,Alfredo M.	Medicina Operatotia	Interino

PROFESOR TITULAR "DEDICACION SIMPLE"

AGUIRRE, Walter G.	Microbiolog. Aplicada	Titular
ARGERI, Nelson J.	Análisis Clínicos I	Interino
ARGERI, Nelson J.	Análisis Clínicos II	Titular
BOCCIA, Francisco O.	Patolog. Quirúrg. y Pod.	Interino
CARROZZA, Jesús S. W.	Física y Quím. Aplic.	Interino
de ANTONI, Graciela L.	Genética Microbiana	Titular
ISEAS, Fortunato B.	Patología Médica	Interino

MARTIN, Alcides A.	Patología General	Titular
MARTINO, Olindo A. L.	Salud Pública	Titular
OSTROWSKI, Jorge E. B.	Reproducción Animal	Titular
PANZONI, Erico E.	Economía Agraria	Titular
PENNIMPEDE, Enrique F. F.	Inmunología I P.	Interino
PEROTTI, Rodolfo M.	Zootec. Espec. III Pte (AyP)	EMERITO
RODRIGUEZ, Benjamín R.	Zootec. Espec. II Pte. (ByE)	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION EXCLUSIVA"

BRANDETTI, Eugenio	Patolog. Aves y Pilíferos	Reemplaz.
ERRECALDE, Jorge O.	Farmacol. Farm. y Terap.	Reemplaz.-a.c/c.
ETCHEVERRIGARAY, María E.	Virología	Titular-a.c/c.
IDIART, Julio R.	Anatom. y Fisiol. Patolog.	Titular
LAGRECA, Liliana A.	Zootec. Gral y Agrostol.	Titular a.c/c.
MONINA, Marta I.	Clín. Grandes Animales	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BOCCIA, Francisco O.	Clínica Pequeños Animales	Interino
DIBBERN, Alberto R.	Zootec.Espec. II Pte.(ByE)	Interino-c/1
DURANTE, Eduardo J.	Servicio C. de Cirugía	Interino
FELDMAN, Raquel E.	Parasitolog. Comparada	Titular a.c/c.
FERNANDEZ, Enrique J.	Enfermed. Infecciosas	Interino-a.c/c.
GARCIA VALENTI, Horacio	Zootec. Espec. II Pte.(ByE)	Interino
GOMEZ, Carlos M.	Inmunología II	Interino-a.c/c.
GRILLO, Virginia E.	Zootec. Espec. III Pte(AyP)	Interino
MAGGI, Nilda B.	Medicina Operatoria	Reemplaz.
MARTINO, Juan J.	Microbiología	Titular a.c/c.
MURO, Alicia M.	Servicio C. de Cirugía	Interino
NOIA, Miguel A.	Introd. a la Biofísica	Titular
NOVARINI, Miguel A.	Farmacol. Farm. y Terap.	Interino
ORTEGA, César F.	Semiología y Proped.	Titular
PENNIMPEDE, María T. del A.	Tecnol. y S. Alimentos	Titular
REINOSO, Enso H.	Micología Méd. e Indust.	Interino a.c/c.
RENNER, Juan F.	Clínica Grand. Animales	Interino
RUAGER, Jorge	Anatomía y Fisiol. Pat.	Titular

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION SIMPLE"

BRANDETTI, Eugenio	Parasit. y Enferm. Parasit.	Interino
BRAVO BARDALES, Tomás	Economía Agraria	Reemplaz.
FINOCHIETTO, Héctor D.	Patología Médica	Interino
GIMENO, Eduardo J.	Patología General	Titular
MAGGI, Nilda B.	Patología Quirúg. y Pod.	Interino
MALIANDI, Florestán S. (h)	Higiene Epid. y S. Pública	Titular
MOISO, Alejandro C.	Microbiología	Titular
OLIVA, Graciela A.	Virología	Interino
PRIO LOFEUDO, Graciela E.	Zootec. Espec.III Pte.(AyP)	Interino
ROJAS, Edmundo R.	Fisiología	Titular
SARA, Raúl C.	Reproducción Animal	Interino
TARSIA, Elba	Introd. a la Biofísica	Titular
TESORIERO, Catalina	Microbiología Especial	Interino
VENTURINI, Lucila M.	Parasit. y Enferm. Parasit.	Interino-a.c/c.
VILLAR, Martha E.	Análisis Clínicos I Parte	Interino
VILLAR, Martha E.	Análisis Clínicos II Parte	Interino

DEDICADO A MIS HIJOS

A MI ESPOSA

A MIS PADRES Y HERMANA

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a las siguientes personas:

. Prof. Dra. Raquel FELDMAN

. Prof. Dr. Jorge RUAGER

. Dr. Jorge ROMERO

. Lic. Guillermo DENEGRI

. Profesora Mirta Graciela LEON

. Dr. Miguel Angel ECHARTE

. Dr. Carlos J.M. SUAREZ

. Dra. Sara I. BERTERO

. Dr. Sergio SAMUS

. Sr. Héctor César MORENO

. Personal no docente de la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U. N. L. P.

. Personal no docente del Laboratorio de Histopatología del Instituto de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U. N. L. P.

. Flia. del Dr. Francisco G. YANNARELLA

. A todas las personas que con su buena voluntad y desinteresada colaboración hicieron posible que este trabajo se llevara a cabo.

DESEO EXPRESAR MI SINCERO RECONOCIMIENTO

A MI COLEGA, MAESTRO Y AMIGO

Dr. FRANCISCO GERARDO YANNARELLA

ANTECEDENTES

"Si los bovinos,equinos u ovinos albergan sarcosporídeos, es indudable que la infección en estos animales no se lleva a cabo por la ingestión de tejidos musculares parasitados. Los hábitos alimentarios de estas especies hacen imposible la infección por este mecanismo.

Nos quedaría por suponer la existencia de un factor intermediario,representado por animales carnívoros u omnívoros,como perros,gatos o ratas,en cuyos organismos se liberarían los merozoítos contenidos en el esquizonte muscular bovino,ovino,etc.,y allí sufrirían una evolución que momentáneamente es la incógnita,haciéndolos aptos para la infección de los herbívoros.

Claro que esta idea implica el desarrollo de una fase gametogónica,de la cual no tenemos prueba alguna..."

Como homenaje póstumo hemos transcripto textualmente el párrafo donde BOERO (1967)[40] deja documentada su genial deducción.

Ésta le valió adelantarse en más de una década al esclarecimiento definitivo del ciclo ontogénico de los Sarcosporídeos que afectan a herbívoros domésticos.

Hasta ese momento,un gran número de investigadores incurrían en el error de considerar la enfermedad como de transmisión directa.

Las primeras descripciones del parásito fueron hechas a mediados del siglo XIX y comienzos del siglo XX y cuentan como pioneros a MIESCHER (1843),BALBIANI (1882) y LANKESTER (1882).[62]

Éste último le dio el nombre genérico de Sarcocystis y las descripciones originales corresponden al cerdo,denominándoselo Sarcocystis miescheriana.

A partir de allí fue común su reconocimiento en la musculatura de los herbívoros (MOULE,1888)[49] ,aunque los conocimientos sólo se limitaban a detallar los quistes intramusculares.

Toda la información publicada sobre sarcosporídeos fue abundante aunque confusa y no permitió aclarar las características taxonómicas del parásito.

Los distintos trabajos concluían equivocadamente en que se trataba de un parásito de ciclo directo.

Th.SMITH (1901) cree demostrar que la sarcosporidiosis del ratón era reproducida experimentalmente 45 días después de la ingestión de carne infectada.

NEGRE reproduce la experiencia de SMITH y observa que los elementos que contenían las heces,eran infectantes para otros individuos de la misma especie.

NEGRI describe un ciclo endógeno igual[36-63].

CRAWLEY y MARULAZ creen que los esporos,antes de llegar a la musculatura, evolucionan en la mucosa intestinal,atraviesan el intestino y luego toman la vía linfática o sanguínea.

Con la introducción de la microscopía electrónica,se detectó una estructura particular,denominada complejo apical,común a varios protozoos.

Nace así un nuevo Phylum,el APICOMPLEXA (LEVINE,1970)[18] ,que incluye a varios géneros,entre los que destacamos:

. Eimeria e Isospora,pertenecientes a la familia Eimeriidae.

. Sarcocystis (subfamilia Sarcocystinae);Toxoplasma,Frenkelia,Hammondia, Besnoitia y Pneumocystis (subfamilia Toxoplasmatinae) pertenecientes a la familia Sarcocystidae.

Interesantes conclusiones se destacan en una serie de trabajos producidos por SCHOLTISECK,MELHORN y FRIEDHOFF (1970);FAYER (1970 y 1972);ROMMEL,HEYDORN y GRUBER (1972);HEYDORN y ROMMEL (1972) y ROMMEL y HEYDORN (1972),citados por SUBERCASEAUX y colaboradores[62] y por FAYER y JOHNSON (1973 y 1974), citados por éste último[27] ,donde se menciona que los carnívoros actúan como hospedadores definitivos y los herbívoros como hospedadores intermediarios.

En los primeros se cumplen las fases gametogónica y esporogónica con eliminación al medio de esporoquistes,los que una vez ingeridos por los hospedadores intermediarios,desarrollan las fases esquizogónica y quistogónica (formación del sarcocystis(*),del griego σαρκωσις -σαρκο: carne, σις :quiste,aumento de carne,excrecencia carnosa),dando lugar así a elementos infectantes para el hospedador definitivo,cuando ingiera carne contaminada.

La fase de multiplicación tisular asexuada que se lleva a cabo en los herbívoros consta de dos etapas[62] :

a) Esquizogonia: la presa ingiere esporoquistes y en su intestino se liberan los esporozoítos,los cuales penetran al interior de las células o son fagocitados por ellas (endoteliocitos). En estas células inician su multiplicación mediante sucesivos procesos de esquizogonia y endodiagenia. Los merozoítos resultantes de esta multiplicación asexuada,rompen la célula huésped y se diseminan por vía sanguínea a otros órganos en donde prosiguen su multiplicación por períodos variables (de algunas semanas,según la

(*) Quiste en la carne.

especie). Estos merozoítos son los responsables del daño que puede sufrir el huésped.

b) Quistogonia: al cabo de aproximadamente un mes después de la infección disminuye el número de merozoítos circulantes hasta desaparecer y se inicia la formación de quistes en las células ya invadidas. La evolución del quiste comienza en la llamada vacuola parasitófora de la célula huésped. El borde de la vacuola o membrana,va siendo engrosado por material proveniente del parásito y se forma así,la pared quística primaria.

Los quistes en evolución albergan dos estados evolutivos del parásito: los metrocitos o merozoítos inmaduros,que no son infectantes y los merozoítos maduros o quistozoítos que corresponden a las formas terminales o infectantes del parásito.

Una confusa denominación existía para el grupo como consecuencia del desconocimiento de relaciones evolutivas entre los distintos hospedadores.

Así es como se mencionan para el bovino: Sarcocystis fusiformis,Sarcocystis cruzi,Sarcocystis hirsuta,Sarcocystis iturbey y Sarcocystis marcovi [19] .

ROMMEL,HEYDORN y colaboradores,citados por CURSACK y colaboradores[19] y por DUBEY[20] ,proponen una nueva clasificación,combinando el nombre genérico de sus hospedadores,lo que permite concebir con total claridad el ciclo evolutivo de las distintas especies de sarcosporídeos:

Sarcocystis cruzi.....Sarcocystis bovicanis

Sarcocystis hirsuta.....Sarcocystis bovifelis

Isospora hominis.....Sarcocystis bovihominis

La importancia del Sarcocystis bovicanis rebasa el terreno puramente científico por las connotaciones económico-sanitarias,cuando se descubre la enfermedad de Dalmeny,incriminándolo como agente etiológico.[21]

En el año 1961 en Dalmeny,Ontario,CANADÁ,en un tambo compuesto por ganado Holstein-Friesian,sobre un total de 36 animales de diversa edad, 25 enfermaron;los signos clínicos incluían pirexia intermitente,baja de la producción láctea,rápida pérdida de peso y disnea. Un animal tenía diarrea,13 tenían vaginitis hemorrágica y 9 sialorrea. Sobre 17 vacas preñadas,10 abortaron en el último tercio de la gestación .

En los animales que no murieron,la enfermedad se hizo crónica. Hasta las ocho semanas después padecieron de extrema emaciación,conjuntivas pálidas,edema intermandibular,exoftalmia y escaras en la punta de la cola. Finalmente,de los 25 animales afectados,sólo ocho se recobraron.

En las necropsias fueron halladas hemorragias equimóticas en varios órganos,particularmente en el miocardio.En el endotelio vascular de la

mayoría de los órganos examinados se hallaron esquizontes.

Esta enfermedad fue reproducida experimentalmente en el ganado,por ingestión de esporoquistes de Sarcocystis,y ante la evidencia de los resultados,la enfermedad de Dalmeny aparece como sinónimo de sarcocystiasis aguda.

En una experiencia realizada en los Estados Unidos,se produjo un hecho casual que permitió vislumbrar la relación de los herbívoros y los carnívoros en el desarrollo del ciclo biológico del parásito:[3] En un tambo con animales Holstein-Friesian,una vaquillona presentó ictericia,neumonía y meningitis y murió dos días después. Fueron encontrados esquizontes en el endotelio vascular de varios tejidos blandos.

En otra vaquillona del mismo establecimiento se observó depresión, debilidad y baja del apetito;los nódulos linfáticos palpables estaban agrandados.

La evaluación hematológica y el examen de médula ósea revelaron anemia macrocítica e hipocrómica. También se hallaron quistes jóvenes en los músculos cervicales.

Esa vaquillona agonizaba al tercer día de internada y fue necropsiada.

Se hallaron: Neumonía,miositis difusa degenerativa e hiperplasia linfoidea. En todos los músculos examinados fueron encontrados quistes jóvenes de Sarcocystis.

Otros seis animales de ese mismo tambo fueron evaluados clínica,hematológica y serológicamente: Todos estaban anémicos y dos presentaron nódulos linfáticos agrandados.

El suero reveló anticuerpos contra Sarcocystis (test de hemoaglutinación indirecta).

En el mismo establecimiento donde se hallaban los bovinos enfermos, existía una perra que fue atada en el corral adyacente al de éstos,al aparecer su período de celo. Esta perra,que había comido en los dos meses anteriores tres cabezas bovinas,presentaba en su materia fecal esporoquistes de Sarcocystis. La última cabeza había sido ingerida aproximadamente,tres semanas antes de la muerte de la primera vaquillona.

Esta investigación,que fue llevada a cabo en la Universidad de Cornell, Ithaca,Estados Unidos de Norteamérica,demostró el importante papel del perro en la diseminación de la enfermedad.

Hubo otros informes procedentes de CANADÁ y AUSTRALIA .

Los actuales conocimientos de la enfermedad en nuestro país,obra de BERTERO,CURSACK,TOSOLINI (1980) y CURSACK,NASIO (1981) han revelado una significativa importancia desde el punto de vista higiénico-sanitario,por

la frecuencia de quistes de Sarcocystis sp.en mamíferos domésticos empleados en la alimentación humana.

Este hecho,sumado a la profunda revisión mundial en cuanto a ciclo biológico y patogenicidad de que el parásito era objeto,motivó a los autores a determinar la incidencia de quistes intramusculares en distintos mamíferos,con resultados hasta ese momento desconocidos en nuestro país,aunque con datos provenientes del extranjero que mencionaban infecciones para la especie bovina de hasta el 100% [1-5-7-8-30-32-33-38-39-41-43-45-46-54-60-63-64-65].

Los autores confirman ese porcentaje en bovinos y establecen los valores para los órganos muestreados,obteniendo los siguientes datos:

86,6% de infección para corazón y diafragma y 73,3% para esófago.

Comprobaron : a) que la inexistencia de quistes macroscópicos no indicaba ausencia de la infección, b) la elevada incidencia de quistes en los distintos cortes histopatológicos y c) la mayor prevalencia en bovinos respecto de otras especies,aunque motivada tal vez por la mayor edad de su comercialización para faena y su mayor consumo.

OBJETIVOS GENERALES

Producir información básica sobre sarcocystiasis bovina que permita:

* verificar y convalidar los resultados obtenidos en el extranjero y

* efectuar un aporte para enriquecer la bibliografía nacional.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

* Detectar Sarcocystis sp.en bovinos de faena y seguir las fases gametogónica y esporogónica en cánidos de prueba,previa infección con carne bovina contaminada.

* Estudiar la morfología y biometría en los estadíos parasitarios en ambos hospedadores.

* Determinar las posibles relaciones ontogenéticas.

MATERIALES Y METODOS

El proceso de investigación incluyó cuatro etapas claramente definidas desde el punto de vista operacional:

I - Búsqueda y obtención de Sarcocystis sp.en bovinos de faena.

II - Infección experimental a cánidos de prueba,con carne conteniendo Sarcocystis sp.

III - Seguimiento de las fases gametogónica y esporogónica.

IV - Estudios morfológicos y biométricos de los Sarcocystis obtenidos de músculo bovino y de los esporoquistes eliminados en materia fecal de cánidos infectados experimentalmente.

DESARROLLO:

I ETAPA : Búsqueda y obtención de Sarcocystis sp.en bovinos de faena.

La finalidad de esta etapa fue obtener material infectado con Sarcocystis sp.para la reproducción experimental de las fases gametogónica y esporogónica en cánidos de prueba.

Es abundante la información extranjera que menciona el elevado porcentaje de bovinos con Sarcocystis sp.y cuáles órganos presentan regularmente mayor incidencia.

En nuestro medio,la escasa bibliografía sobre el particular se debe a los muestreos realizados por CURSACK y colaboradores[5-49].

Pese al indudable valor de esta información,el rigor experimental pretendido para nuestros estudios,nos obligó a realizar como punto de partida,un muestreo de verificación de antecedentes.

Elección de la muestra : se eligieron muestras de los órganos que de acuerdo con la bibliografía han demostrado mayor porcentaje de infección: corazón,diafragma y esófago.

De la tropa ingresada para la faena del 9 de marzo de 1984,se eligieron al azar diez vacas cuya procedencia era de los Partidos de General Belgrano,25 de Mayo y Lobos (Provincia de Buenos Aires).El peso promedio de las reses fue de 209,400 kg.

Número de muestras: de cada animal se tomaron seis muestras: dos de corazón,dos de diafragma y dos de esófago,totalizando sesenta trozos de carne de 1 cm.por 1 cm.por 0,5 cm.,las correspondientes a corazón y diafragma y de 1 cm.por

1 cm.por el espesor normal para el esófago.

Del total de muestras se derivó el 50% al Laboratorio de Histopatología del Instituto de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata para su examen.

Las muestras fueron identificadas y fijadas en formol al 10%.Para la coloración de los cortes para histopatología se empleó la técnica de rutina de hematoxilina - eosina.

El 50% restante se utilizó para digestión pépsica y observación microscópica en fresco.

Digestión pépsica:

En primer término se empleó,para cada 100 g.de carne desgrasada y picada,una solución compuesta por:

Pepsina..... 7g.

Acido clorhídrico..... 25ml.

Agua destilada.....2000ml.

Llevar a baño maría a 37°C durante 4 horas.Dejar en reposo una hora y observar.

Ante la reiteración de resultados negativos en contraposición con el porcentaje de infección se decidió desechar el método y utilizar el descripto por Collins y colaboradores (1980)[46-59],empleando la siguiente fórmula:

Pepsina..... 1,3 g.

Acido clorhídrico puro densidad 1:18.... 3,5 mg.

Cloruro de sodio..... 2,5 g.

Agua destilada.....500 ml.

Se utilizó en proporción de 10 g.de carne desgrasada y desmenuzada en 100 ml.de solución y se sometió a baño maría a 40°C durante 20 minutos.A continuación se filtró (en nuestro caso empleando un colador común de uso doméstico).

Del filtrado se tomaron 10 ml.y se centrifugaron durante 5 minutos a 2000 revoluciones por minuto.Se volcó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 0,5 ml.de solución fisiológica.Se observó en microscopio a 400 aumentos.

El procesado de las muestras,30 en total,se efectuó en forma individual.

Observación microscópica:

Se observaron improntas y muestras comprimidas en microscopio

y por triquinoscopía.

MUESTREO PARA INFECCION EXPERIMENTAL

Sobre la base de los resultados obtenidos,se procedió a tomar nuevas muestras para la realización de este paso. La detección de la infección se realizó por el método de digestión pépsica.

Se tomaron muestras de corazón diafragma y esófago de peso variable,no inferior a 100 g.cada una,de por lo menos diez vacunos (vacas consumo) por día de faena (tres días por semana).

Las muestras fueron desgrasadas y previo al procesamiento se tomó una pequeña porción de cada una,para someterla en forma individual a digestión pépsica.

El muestreo individual de órganos se realizó durante la primera semana confirmando los resultados anteriores,por lo que decidimos trabajar sobre un pool de órganos hasta el final de la experiencia,simplificando la búsqueda.

II ETAPA : Infección experimental a cánidos de prueba.

Se conformaron dos lotes de cachorros,uno testigo y uno de prueba. Para ello se obtuvieron cánidos libres de Sarcocystis partiendo de un plantel de tres perras madres, a las que se les dio servicio previa desparasitación. Posteriormente,una fue descartada al no lograrse parición.

El análisis coproparasitológico de cada una de las madres se realizó por el método de Willis,comprobándose en todas regular cantidad de huevos de Toxocara canis,Trichuris vulpis y Ancylostoma sp. y en una de ellas se encontraron esporoquistes no identificados.

Ante estos resultados se decidió medicar las perras de manera de cubrir un amplio espectro,con Praziquantel (Droncit de Laboratorio Bayer) en forma preventiva,a la dosis de 5 mg./k.p.v. y a continuación con Mebendazole (Telmin de Laboratorio Jansen),40 mg/k.p.v. por día durante cinco días consecutivos.

A los nueve días se les dio servicio. Los datos individuales los detallamos a continuación:

Madre nº 1: Perra mestiza,de 5,200 kg.de peso,4 años de edad y dos pariciones anteriores. Se le dio servicio

con un macho mestizo de 7,300 kg. de peso.

Fecha del 1° servicio: 23 de junio de 1984.

Fecha probable del parto, tomando como dato el primer servicio: 25 de agosto de 1984.

El día 27 de agosto aún no había tenido cría, presentaba decaimiento general, hipotermia de 36°2 C, contracciones uterinas débiles, eliminación de flujo sero-sanguinolento y dificultad para caminar. Se decidió hacer cesárea y se obtuvieron seis cachorros, todos vivos. La recuperación de la madre fue normal, así como la de la totalidad de la cría.

Madre n° 2: Perra Doberman de 22 kg. de peso, 18 meses de edad y primípara. Se le dio servicio con un macho de igual raza, de 30 kg. de peso.

Fecha del primer servicio: 6 de agosto de 1984.

Fecha probable de parto tomando como dato el primer servicio: 8 de octubre de 1984.

Parición: natural.

Fecha de parto: 7 de octubre de 1984.

Número de cachorros nacidos: seis.

En esta perra aparecieron esporoquistes no identificados en los exámenes coproparasitológicos previos.

Madre n° 3: Perra mestiza de 6,100 kg. de peso y siete años de edad. Se le dio servicio con un macho mestizo de 7,300kg. de peso el 4 de noviembre de 1984. Fue descartada al no lograrse parición.

N° de cachorros obtenidos del plantel de perras madres:

fueron doce cachorros. De ellos, uno correspondiente a la madre n° 1, murió a los 8 días, luego de una copiosa diarrea que no cedió al tratamiento sintomático.

Crianza de los cachorros: Luego de producido el nacimiento se los separó de sus respectivas madres y se ubicaron en un ambiente adecuado para la experiencia. Se logró el control de la temperatura por medio de calefactores eléctricos a cuarzo y los cachorros fueron colocados en cajones provistos de bolsas de goma con agua caliente y mantas.

Durante este período se los alimentó con leche maternizada de uso humano (Fórmula S-26 de Laboratorio John Wyeth),

preparada,de acuerdo a las instrucciones del fabricante,con 30 ml.de agua hervida por cada medida del producto.Fue administrada a una temperatura aproximada de 37°C cada dos horas,a razón de 10 ml.por cachorro,siendo variable la ingestión de la misma.De esta manera se procedió desde las primeras 24 horas hasta las 72 horas de vida.A partir de allí,durante la noche,el plazo se extendía a 3 y 4 horas entre cada mamadera,durante la segunda y tercera semana.Finalizada la tercera semana,se prolongó a 6 horas el intervalo nocturno de lactancia.Desde el octavo día de vida,se le suministró a cada uno,una cucharadita de las de café (peso aproximado 3 g.)de queso tipo "cottagge". En ese período la leche fue adicionada con la albúmina de un huevo por cada litro.

La proporción y dosificación del alimento fue variando de acuerdo con la apetencia de cada uno y con el aumento de peso que fueron registrando.

Treinta días después del nacimiento se identificaron y se formaron dos lotes: "de prueba" y "testigo".

Se les practicó análisis coproparasitológicos por el método de Willis,los que revelaron abundante cantidad de huevos de Toxocara canis,por lo que se decide implementar el tratamiento correspondiente,a base de piperazina biclorhidrato (Ascaricida ,de laboratorio John Martin) a razón de 100 mg.por kg.p.v.,administrando una dosis y repitiéndola una semana después.

Recibieron una dieta compuesta por leche fluída de vaca, previamente hervida durante 20 minutos,y una cantidad inicial de 50 g.de carne vacuna infectada,proveniente de los órganos mencionados,desgrasada y picada.Esta cantidad fue aumentada de acuerdo al crecimiento y apetencia individual.El lote "de prueba" recibió la carne cruda y el lote testigo,cocida durante 20 minutos a 100°C como placebo. La infección de la carne fue confirmada por digestión pépsica y detección microscópica.

III ETAPA: Seguimiento de las fases gametogónica y esporogónica en cánidos de prueba.

Nuestra pesquisa se inició a las 24 horas de la primoingestión de carne infectada y continuó durante los 30 días subsiguientes.

Se efectuaron análisis coproparasitológicos diarios,en ambos lotes,por el método de Willis.La materia fecal se obtuvo de dos recolecciones diarias:de mañana entre las 8 y las 10 horas y de tarde entre las 18 y las 20 horas.

IV ETAPA : Estudios morfológicos y biométricos de los Sarcocystis obtenidos de músculo bovino y de los esporoquistes eliminados en materia fecal de cánidos infectados experimentalmente.

Con respecto a los quistes obtenidos del músculo bovino, dejamos expresado en la hoja n°14 ,RESULTADOS DE LA IV ETAPA,la forma en que fueron evaluados.

La evaluación estadística se efectuó sobre los merozoítos (metrocitos o bradizoítos),ooquistes y esporoquistes.Para la determinación del tamaño de la muestra se recurrió a literatura específica y se la calculó en base a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{n_o}{1 + \frac{n_o}{N}}$$

RESULTADOS

RESULTADOS DE LA I ETAPA

Cuadro de resultados de los exámenes histopatológicos

Fecha de toma de muestras : 9 de marzo de 1984.

Fijación de las muestras : formol al 10 %.

Técnica de coloración utilizada : hematoxilina - eosina.

BOVINO nº	PROTOCOLO LABORATORIO nº	PESO EN GANCHO (en kg.)	MUESTRAS Número de Quistes por Corte		
			A	B	C
1	5469	172	15	1	7
2	5470	237	22	7	53
3	5471	232	39	6	8
4	5472	221	66	22	35
5	5473	233	37	4	15
6	5474	213	7	0	0
7	5475	216	6	0	29
8	5476	193	58	3	22
9	5477	191	11	0	5
10	5478	186	8	0	19

Porcentaje de infección por órgano : 100% 60% 90%

Porcentaje de infección por animal : 100%

Animales que presentaron los tres órganos infectados..... 60%.

Animales que presentaron dos de los tres órganos infectados..... 30%.

Animales que presentaron uno de los tres órganos infectados..... 10%.

Promedio peso/res : 209,400 kg.

REFERENCIAS : A : Corazón B : Diafragma C : Esófago.

Resultados de los exámenes por digestión pépsica.

Tomando como unidad 1 g. de carne de cada uno de los órganos, el resultado obtenido fue positivo (+) en el 100 % de los casos.

El procesado fue individual en las 30 muestras.

La digestión pépsica resultó más sensible que los exámenes histopatológicos (gráfico nº 1).

Resultados de la observación microscópica en fresco y por triquinoscopía

Se observaron improntas y muestras comprimidas en microscopio y por triquinoscopía: en ninguno de los tres métodos fue posible identificar quistes de sarcosporídeos.

RESULTADOS DE LA II ETAPA

En total se utilizaron 11 cachorros, de los cuales 5 conformaron el "lote testigo" y 6 el "lote de prueba".

El peso de los mismos, que fue controlado diariamente, se mantuvo dentro de los límites normales señalados para la edad y la raza. (Se completa con los gráficos nº 2 y 3).

RESULTADOS DE LA III ETAPA

Trece días después de la primoingestión de carne, la totalidad de los cachorros del lote de prueba comenzó a eliminar esporoquistes y ooquistes. La eliminación continuó hasta los 60 días de vida, momento en que finalizó la vigilancia.

El período prepatente resultó de 13 días.

En todos los animales del lote testigo, los exámenes coproparasitológicos fueron negativos. (Gráficos nº 2 y 3).

RESULTADOS DE LA IV ETAPA

QUISTES:

Se trabajó directamente sobre los preparados histopatológicos. Hecha esta aclaración, diremos que los datos referidos a su morfología y biometría son al solo efecto ilustrativo, debido a que los quistes se distribuyen en diferentes planos y direcciones respecto del plano corte.

De acuerdo a lo observado,los quistes presentaron un gran polimorfismo: la mayoría eran de forma alargada,aunque también visualizamos algunos ovoides y esféricos (fotos nº 1-2-3-4 y 5).

Medidas de los quistes

Corazón

Tamaño de la muestra : 66.

Nº de quistes medidos: 33.

Largo promedio : 125,24 micras.

Ancho promedio : 58,69 micras.

Esófago

Tamaño de la muestra : 35.

Nº de quistes medidos: 18.

Largo promedio : 97,6 micras.

Ancho promedio : 66 micras.

Diafragma

Tamaño de la muestra : 22.

Nº de quistes medidos: 11.

Largo promedio : 125,02 micras.

Ancho promedio : 40,58 micras.

MEROZOITOS

Morfología:Los merozoítos libres,obtenidos del examen de órganos por digestión pépsica y observados al microscopio,presentaron la característica forma de banana con su extremo anterior,o porción apical,agudo y el posterior obtuso.

Medidas:

Tamaño de la muestra : 100.

Tamaño necesario para evaluarla con el 99% de confiabilidad : 52.

Largo promedio : 13,22 micras.....s(desvío estandar): 1,52.

Ancho promedio : 7,21 micras.....s : 0,83.

Oscilación : + - 0,5 micras.

ESPOROQUISTES

Morfología: Los esporoquistes hallados en la materia fecal de los cánidos de prueba,presentaron la clásica forma elipsoidal,conteniendo cuatro esporozoítos y un cuerpo granular residual.

Medidas

Tamaño de la muestra : 46.

Tamaño necesario para evaluarla con un 99% de confiabilidad : 40.

Largo promedio : 15.48 micras.....s : 1,31.

Ancho promedio : 9,45 micras.....s : 0,87.

Oscilación : + - 0,5 micras.

OOQUISTES

Morfología:Al igual que los esporoquistes,fueron obtenidos de la materia fecal de los cánidos de prueba.Respondieron a las formas del género Isospora:sensiblemente ovalados,conteniendo dos esporoquistestetrazoicos y sendos cuerpos granulares residuales.

Medidas

Tamaño de la muestra : 7.

Tamaño necesario para evaluarla con un 99% de confiabilidad : 11.

Largo promedio : 18,43 micras.....s : 0,73.

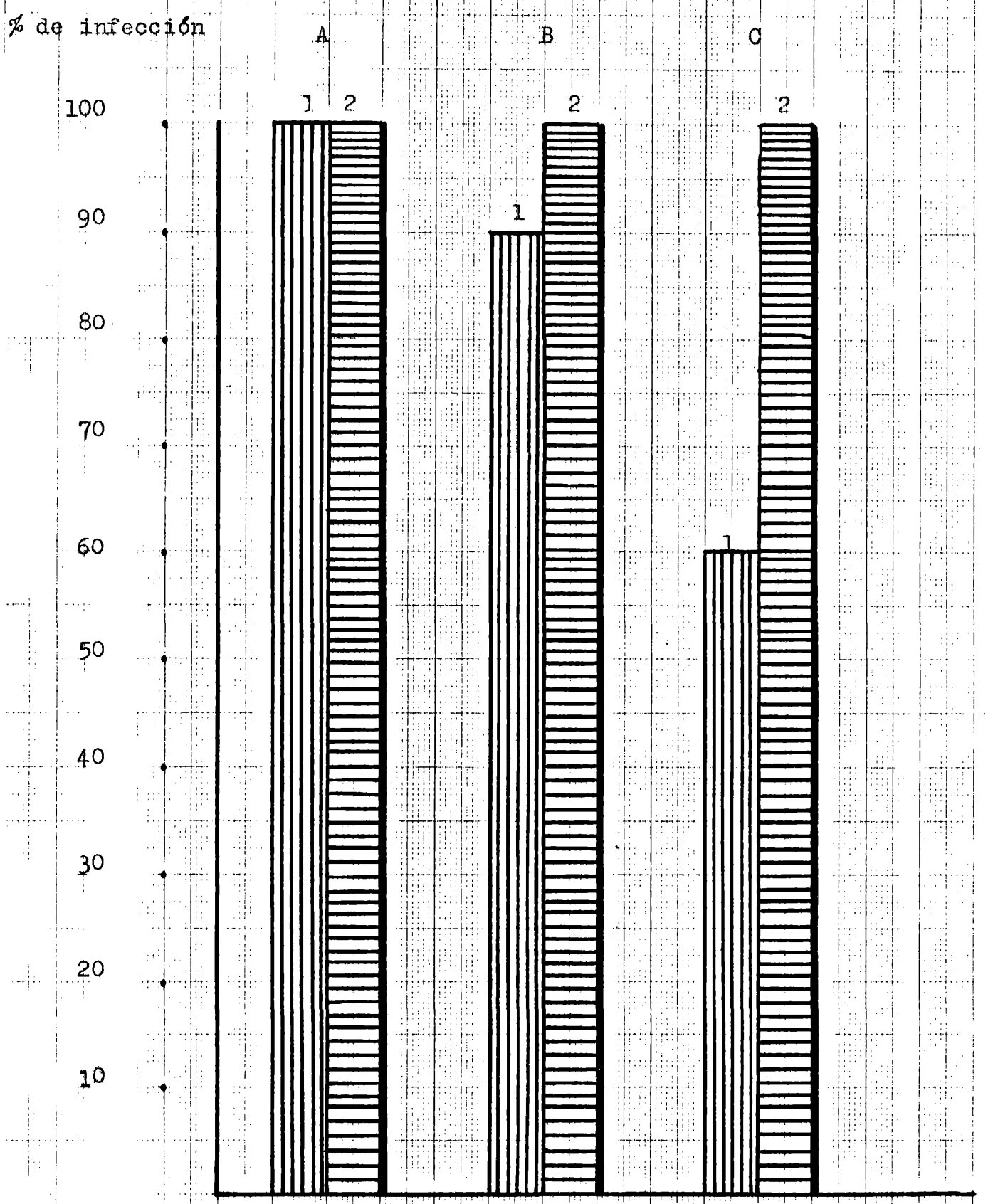
Ancho promedio : 15,21 micras.....s : 0,57.

Confiabilidad : 95 %.

Oscilación : + - 0,5 micras.

GRAFICO nº 1.-

GRAFICO COMPARATIVO DEL PORCENTAJE DE INFECCION OBTENIDO POR EXAMEN HISTOPATOLOGICO Y DIGESTION PEPSICA.

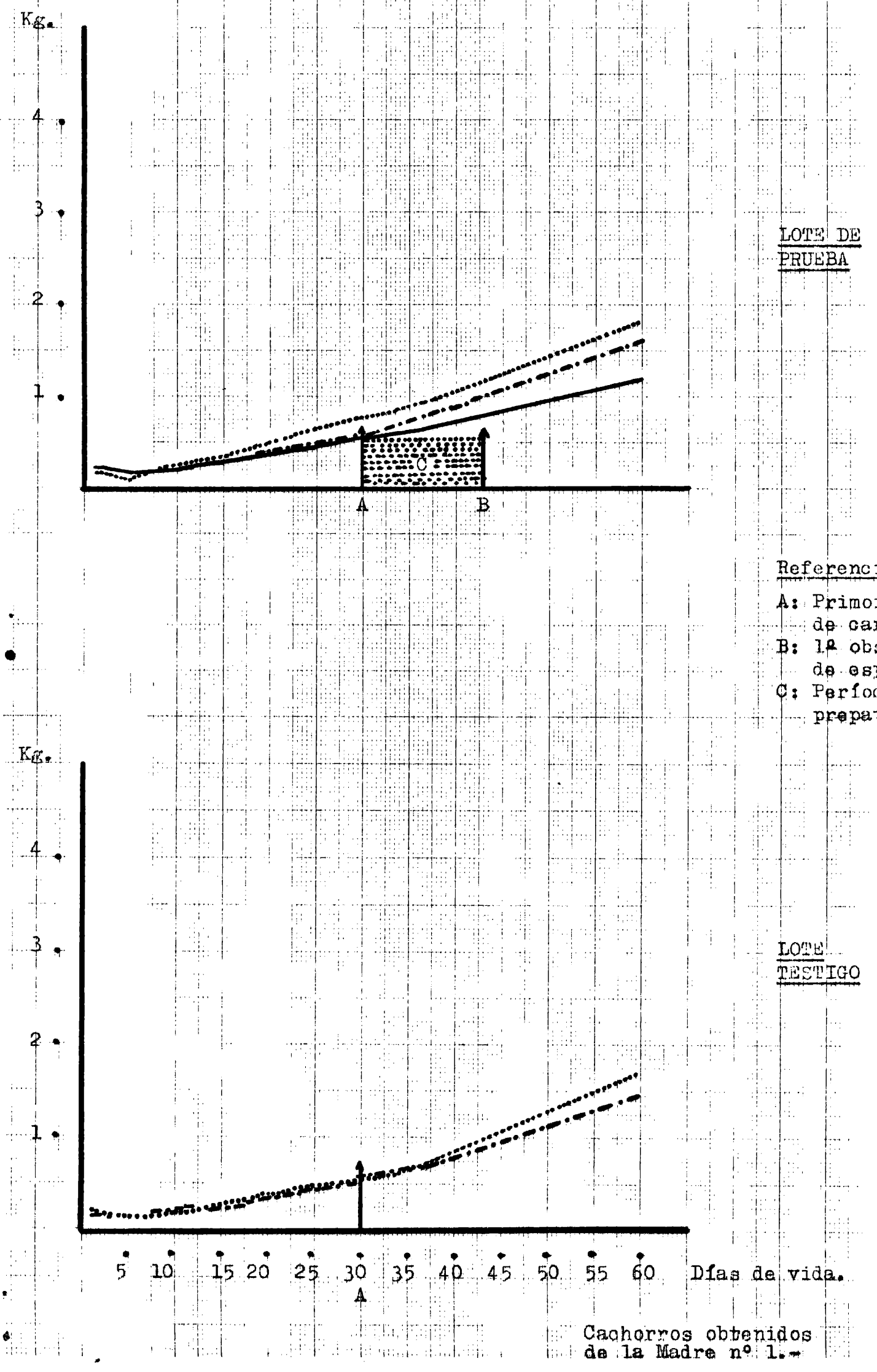


REFERENCIAS

A: Corazón
B: Esófago
C: Diafragma
1: Examen por histopatología
2: Examen por digetión pépsica.

Gráfico nº 2.-

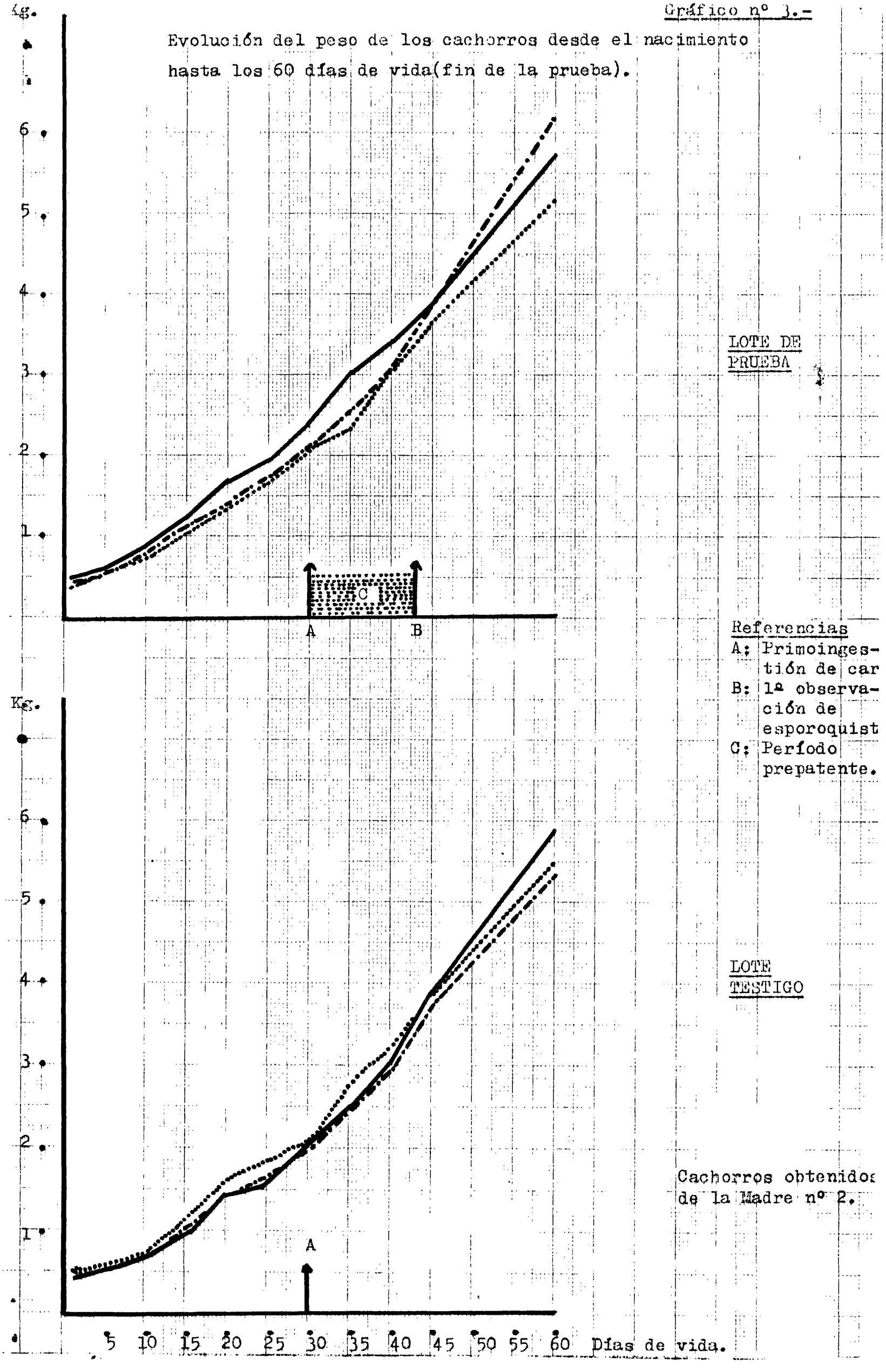
Evolución del peso de los cachorros desde el nacimiento hasta los 60 días de vida(fin de la prueba).



Cachorros obtenidos de la Madre nº 1.-

Gráfico nº 3.-

Evolución del peso de los cachorros desde el nacimiento hasta los 60 días de vida(fin de la prueba).



Cachorros obtenidos de la Madre nº 2.

SEGUIMIENTO DE LAS FASES GAMETOGONICA-ESPOROGONICA EN CANIDOS DE PRUEBA -Análisis Coproparasitológicos:Método de Willis.
Cachorros obtenidos de la Madre nº 1.

Resultados

LOTE TESTIGO

DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS
1	- - -	16	- -	31	- -	46	- -
2	- - -	17	- -	32	- -	47	- -
3	- - -	18	- -	33	- -	48	- -
4	- - -	19	- -	34	- -	49	- -
5	- - -	20	- -	35	- -	50	- -
6	- - -	21	- -	36	- -	51	- -
7	- - -	22	- -	37	- -	52	- -
8	- - F	23	- -	38	- -	53	- -
9	- -	24	- -	39	- -	54	- -
10	- -	25	- -	40	- -	55	- -
11	- -	26	- -	41	- -	56	- -
12	- -	27	- -	42	- -	57	- -
13	- -	28	- -	43	- -	58	- -
14	- -	29	- -	44	- -	59	- -
15	- -	30	- -	45	- -	60	- -

LOTE DE PRUEBA

DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS	DIA	CACHORROS
1	- - -	16	+ + +	31	+ + +	46	+ + +
2	- - -	17	+ + +	32	+ + +	47	+ + +
3	- - -	18	+ + +	33	+ + +	48	+ + +
4	- - -	19	+ + +	34	+ + +	49	+ + +
5	- - -	20	+ + +	35	+ + +	50	+ + +
6	- - -	21	+ + +	36	+ + +	51	+ + +
7	- - -	22	+ + +	37	+ + +	52	+ + +
8	- - -	23	+ + +	38	+ + +	53	+ + +
9	- - -	24	+ + +	39	+ + +	54	+ + +
10	- - -	25	+ + +	40	+ + +	55	+ + +
11	- - -	26	+ + +	41	+ + +	56	+ + +
12	- - -	27	+ + +	42	+ + +	57	+ + +
13	- - -	28	+ + +	43	+ + +	58	+ + +
14	+ + +	29	+ + +	44	+ + +	59	+ + +
15	+ + +	30	+ + +	45	+ + +	60	+ + +

REFERENCIA: F [redacted] fallecido.

NOTA: el resultado de cada día corresponde a la evaluación de los dos exámenes coproparasitológicos diarios(uno por la mañana y otro por la tarde).De haberse obtenido resultados distintos en alguno de ellos,habrían sido indicados.

SEGUIMIENTO DE LAS FASES GAMETOGONICA-ESPOROGONICA EN CANIDOS DE PRUEBA -Análisis Coproparasitológico:Método de Willis.

• Cachorros obtenidos de la Madre nº 2.

Resultados

LOTE TESTIGO

DIA	CACHORROS 1	CACHORROS 2	CACHORROS 3	DIA	CACHORROS 1	CACHORROS 2	CACHORROS 3	DIA	CACHORROS 1	CACHORROS 2	CACHORROS 3	DIA	CACHORROS 1	CACHORROS 2	CACHORROS 3
1	-	-	-	16	-	-	-	31	-	-	-	46	-	-	-
2	-	-	-	17	-	-	-	32	-	-	-	47	-	-	-
3	-	-	-	18	-	-	-	33	-	-	-	48	-	-	-
4	-	-	-	19	-	-	-	34	-	-	-	49	-	-	-
5	-	-	-	20	-	-	-	35	-	-	-	50	-	-	-
6	-	-	-	21	-	-	-	36	-	-	-	51	-	-	-
7	-	-	-	22	-	-	-	37	-	-	-	52	-	-	-
8	-	-	-	23	-	-	-	38	-	-	-	53	-	-	-
9	-	-	-	24	-	-	-	39	-	-	-	54	-	-	-
10	-	-	-	25	-	-	-	40	-	-	-	55	-	-	-
11	-	-	-	26	-	-	-	41	-	-	-	56	-	-	-
12	-	-	-	27	-	-	-	42	-	-	-	57	-	-	-
13	-	-	-	28	-	-	-	43	-	-	-	58	-	-	-
14	-	-	-	29	-	-	-	44	-	-	-	59	-	-	-
15	-	-	-	30	-	-	-	45	-	-	-	60	-	-	-

LOTE DE PRUEBA

DIA	CACHORROS 4	CACHORROS 5	CACHORROS 6	DIA	CACHORROS 4	CACHORROS 5	CACHORROS 6	DIA	CACHORROS 4	CACHORROS 5	CACHORROS 6	DIA	CACHORROS 4	CACHORROS 5	CACHORROS 6
1	-	-	-	16	+	+	+	31	+	+	+	46	+	+	+
2	-	-	-	17	+	+	+	32	+	+	+	47	+	+	+
3	-	-	-	18	+	+	+	33	+	+	+	48	+	+	+
4	-	-	-	19	+	+	+	34	+	+	+	49	+	+	+
5	-	-	-	20	+	+	+	35	+	+	+	50	+	+	+
6	-	-	-	21	+	+	+	36	+	+	+	51	+	+	+
7	-	-	-	22	+	+	+	37	+	+	+	52	+	+	+
8	-	-	-	23	+	+	+	38	+	+	+	53	+	+	+
9	-	-	-	24	+	+	+	39	+	+	+	54	+	+	+
10	-	-	-	25	+	+	+	40	+	+	+	55	+	+	+
11	-	-	-	26	+	+	+	41	+	+	+	56	+	+	+
12	-	-	-	27	+	+	+	42	+	+	+	57	+	+	+
13	-	-	-	28	+	+	+	43	+	+	+	58	+	+	+
14	+	+	+	29	+	+	+	44	+	+	+	59	+	+	+
15	+	+	+	30	+	+	+	45	+	+	+	60	+	+	+

NOTA: el resultado de cada día corresponde a la evaluación de los dos exámenes coproparasitológicos diarios(uno de mañana y otro por la tarde). De haberse obtenido resultados distintos en alguno de ellos,habrían sido indicados.

CONSIDERACIONES

Si bien los exámenes histológicos revelan que el total de los animales utilizados en la experiencia portan Sarcocystis,los órganos elegidos para el muestreo (corazón,esófago y diafragma) presentan diferencias significativas,diferencias que van desde la ausencia de Sarcocystis hasta la presencia de un elevado número,como lo indica la tabla respectiva.

Utilizando técnicas más sensibles,por permitir procesar mayor volumen de muestras,como la digestión pépsica,el total de órganos analizados,de la totalidad de animales,arrojó una infección del 100%.

Es sabido que los bovinos pueden albergar distintas especies de Sarcocystis: S.bovicanis,S.bovifelis y S.bovihominis.

Los cortes histológicos de nuestro material presentaban algunas diferencias,sobre todo en el tamaño de los quistes. Estas diferencias podrían obedecer a una infección mixta,representar simplemente distintos momentos evolutivos de una misma especie,o bien deberse a cortes histológicos en distintos planos.

Los exámenes biométricos de los merozoítos recogidos de la digestión pépsica respondieron preferentemente a S.bovicanis.[62]

Nos llama la atención la elevada infección detectada y nos planteamos el siguiente interrogante:

¿El perro de campo,de hábitat preponderantemente domiciliario,sería fuente suficiente de esporoquistes como para mantener una contaminación constante del medio,que posibilite tan elevado porcentaje de Sarcocystis en los hospedadores intermediarios?

Claro que todo dependería de: a) nº de hospedadores definitivos, b) la posibilidad de ingestión de carne con Sarcocystis sp., c) el período de eliminación de esporoquistes y su supervivencia en el medio, d) las posibilidades de diseminación, e) la superficie del medio, f) nº de hospedadores intermediarios y,la de mayor importancia para lograr una infección masiva con Sarcocystis, g) la reproducción asexual del parásito en el hospedador intermediario.

Tal vez habría que considerar la intervención de otros hospedadores definitivos,integrantes del ecosistema natural,de hábitos carnívoros u omnívoros,entre los que podrían destacarse en nuestra zona: comadreja picasa (Didelphis azarae), comadreja colorada (Lutreolina crassicaudata), peludo (Chaetophractus villosus), zorrino (Conepatus suffocans), hurón (Tayra bárbara), zorro gris (Pseudalopex culpaeus),que actuarían como verdaderos reservorios de la parasitosis,o sea que podrían coexistir

dos tipos de ciclos:

1) Uno silvestre,que respondería al natural,manteniendo una contaminación permanente del medio y una infección crónica de los bovinos.

Esta infección contínua,por goteo,provocaría un estado de resistencia, al punto de no evidenciar manifestaciones clínicas a pesar del elevado número de Sarcocystis encontrados en órganos de vital importancia.

Es llamativo pues,el hecho de no registrarse en nuestro medio datos sobre sarcocystiasis clínica en bovinos.

2) Un ciclo donde interviene el perro doméstico en los establecimientos ganaderos.

Éste,en determinadas circunstancias,podría eliminar en forma súbita cantidades elevadas de esporoquistes que provocarían una primoinfección masiva e imprevista para el hospedador intermediario con producción de una infección aguda,tipo enfermedad de Dalmeny.

Consideramos que la búsqueda de esporoquistes en animales silvestres o bien como paso previo,el examen de reses que provengan de establecimientos libres de perros y la reproducción de la infección aguda en terneros criados en cautiverio,podrían resultar de interés epidemiológico y serían motivo de nuevos trabajos experimentales.

CONCLUSIONES

1°) Por la técnica de digestión pépsica se logró detectar que todos los órganos empleados (corazón,esófago y diafragma) en la dieta experimental de los perros estudiados,presentaban Sarcocystis.

2°) Todos los cachorros caninos de prueba criados en cautiverio y alimentados con vísceras infectadas,despidieron esporoquistes y ooquistes de Sarcocystis,por materia fecal,13 días post infección.

3°) El período de eliminación prosiguió hasta los sesenta días de vida,momento en que finalizó la vigilancia.

4°) El número de esporoquistes superó,en todas las muestras,al de ooquistes: ambos aparecieron en gran cantidad.

5°) Los estudios biométricos sobre ooquistes y esporoquistes respondieron a las medidas dadas para Sarcocystis bovicanis.

6°) Los estudios biométricos sobre merozoítos también respondieron a las medidas dadas para Sarcocystis bovicanis.

7°) En el caso de los quistes,las medidas fueron ilustrativas,con las reservas señaladas anteriormente,pues se trabajó directamente sobre los preparados histopatológicos,donde éstos se distribuyen en diferentes planos y direcciones respecto del plano de corte.

8°) En el lote testigo se comprobó la ausencia de ooquistes y esporoquistes de Sarcocystis.

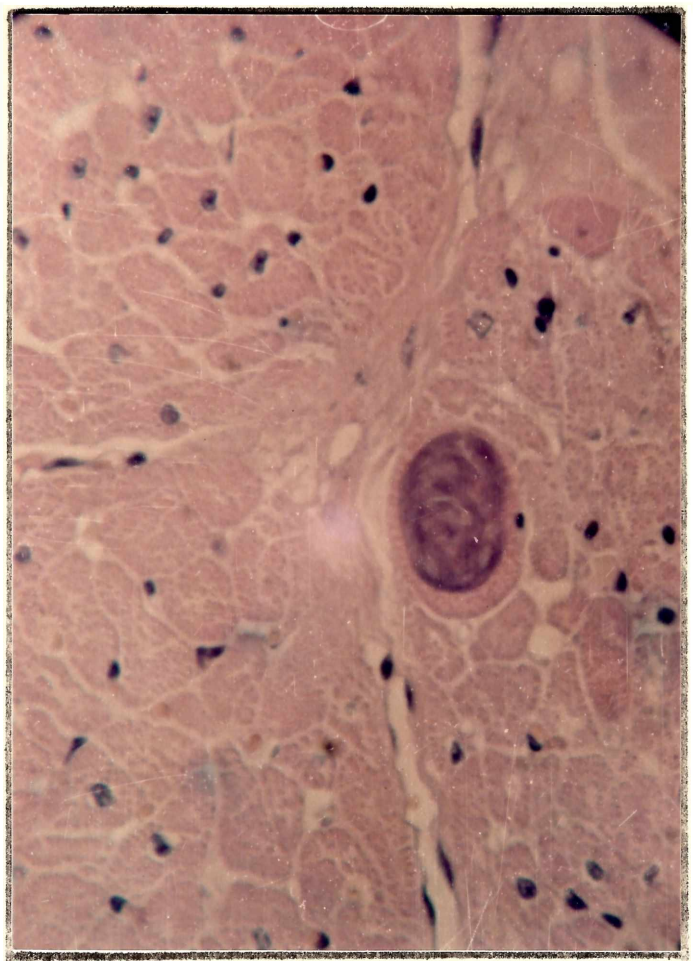


FOTO N 1

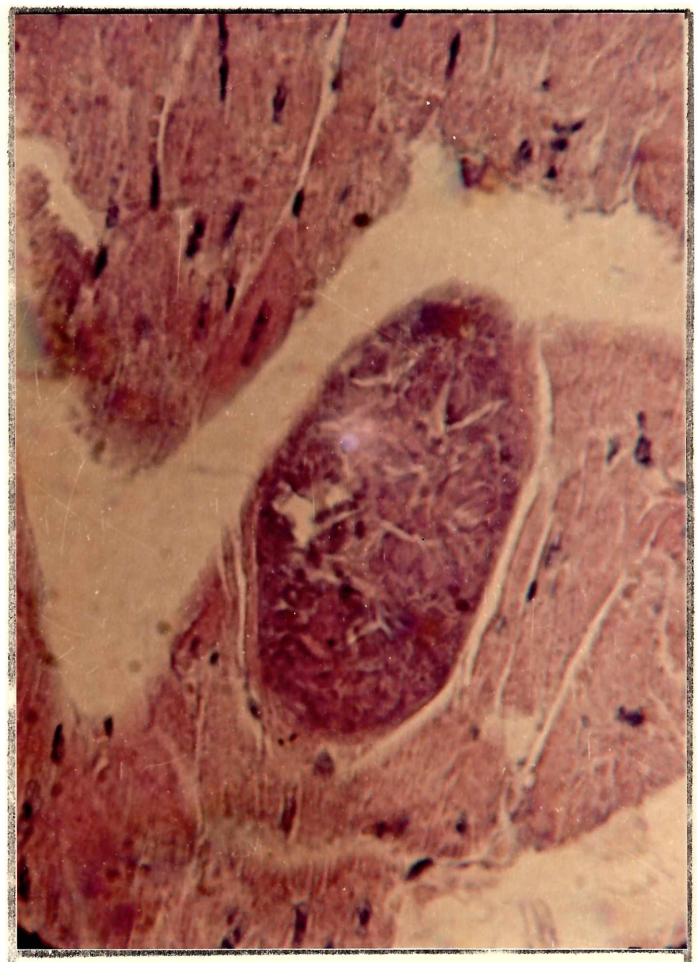


FOTO N 2

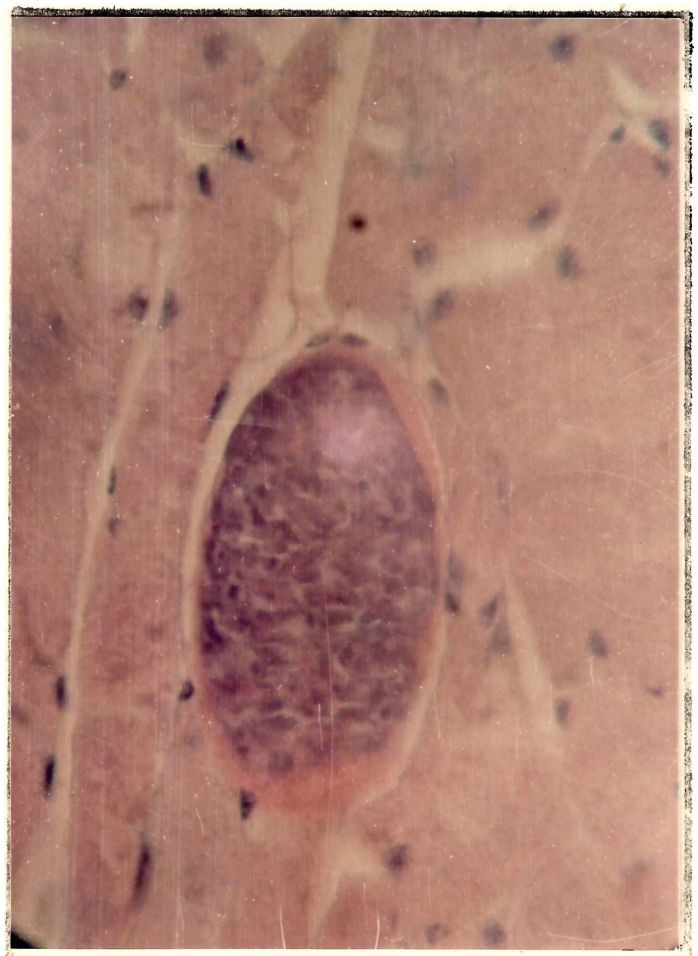


FOTO N 3

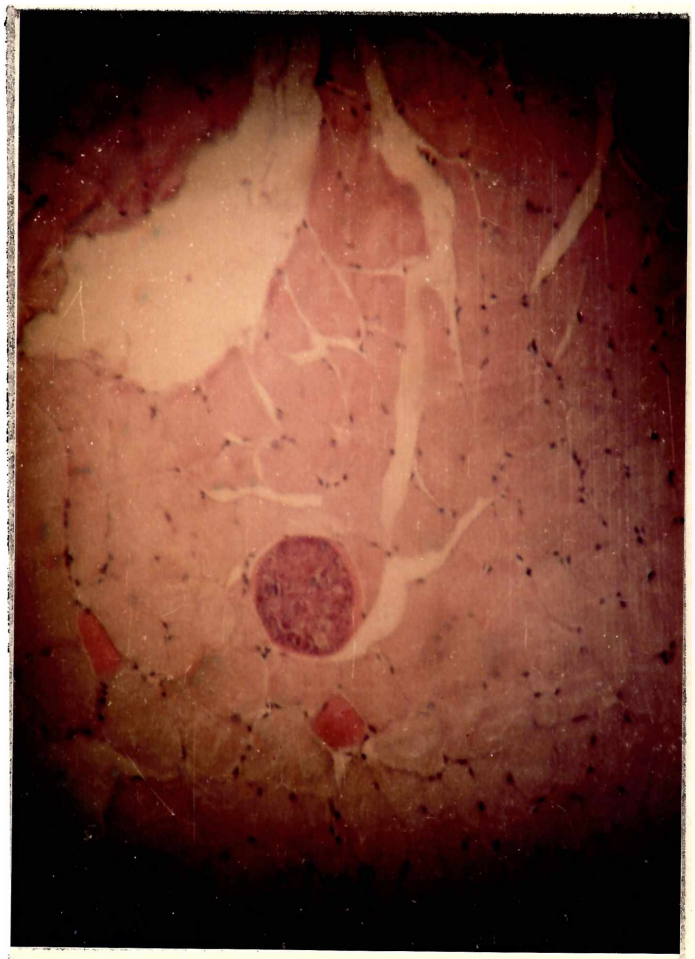


FOTO N 4

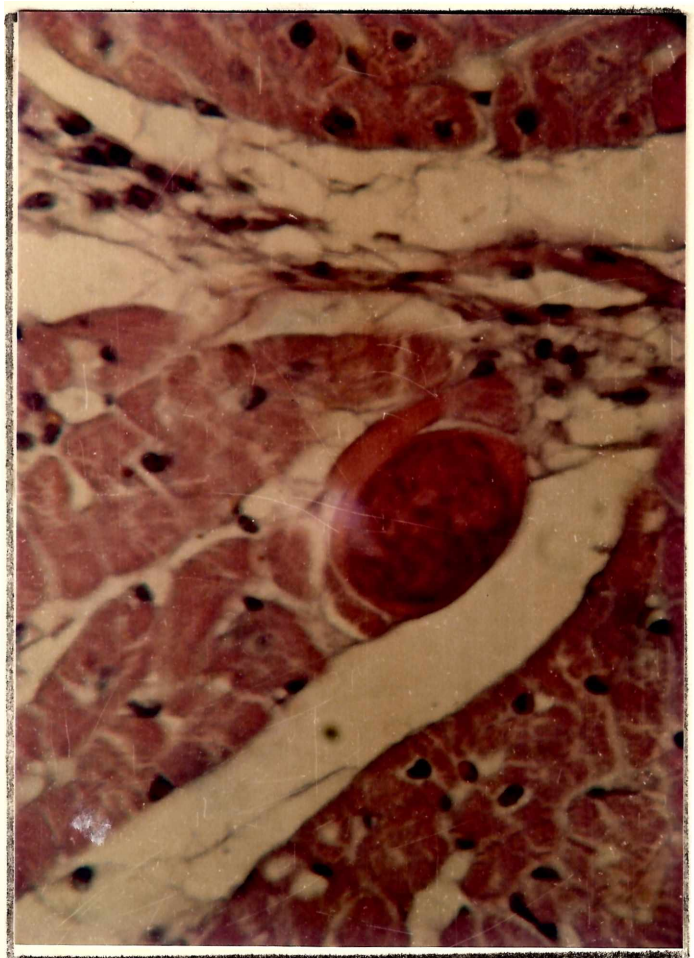


FOTO N 5

FOTO N 6

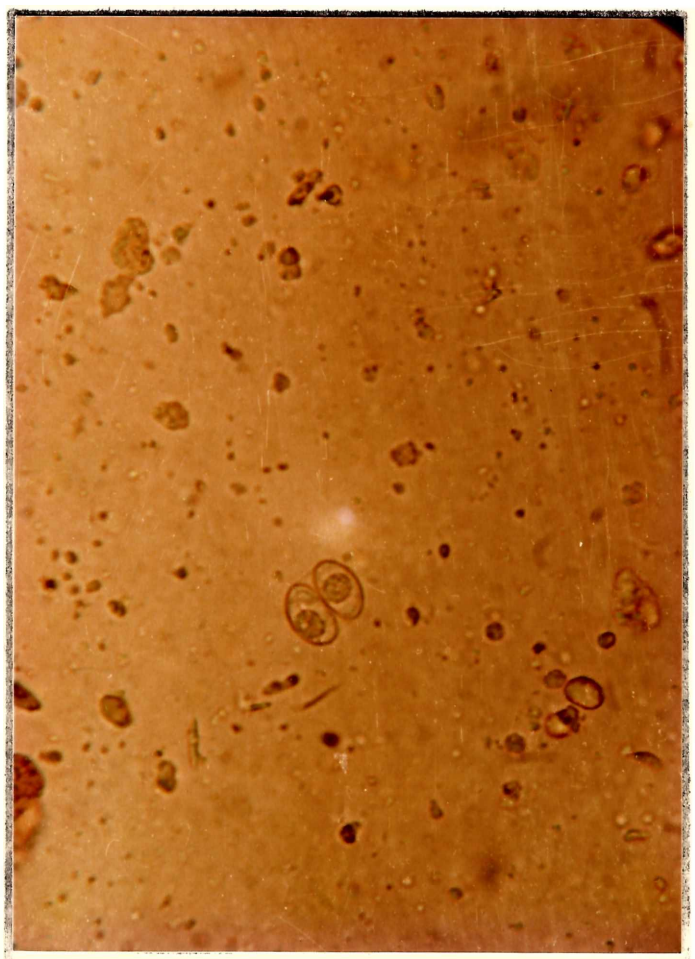


FOTO N 7

FOTO N 8

FOTOGRAFIAS: Referencias

Foto nº	Organo	Corresponde a preparado nº	Aumentos	Ref. principal
1	Corazón	5475/1	X 700	quiste
2	Esófago	5472/2	X 700	quiste
3	Esófago	5470/2	X 700	quiste
4	Esófago	5470/2	X 150	quiste
5	Diafragma	5470/3	X 700	quiste
6		Mat. fecal	X 700	ooquiste y esporoquiste
7		Mat fecal	X 700	ooquiste
8		Mat fecal	X 1500	ooquiste

BIBLIOGRAFIA

1 - ARRU,E.;TANDA,S.;COSSEDDU,A.M.-Importanza dei sarcosporidii nell'ispezioni delle carne.La Clin Vet,100,341-346 (1977).

2 - ATIAS,A.;NEGME,A.-Parasitología Clínica.(1979) Editorial Intermédica,Buenos Aires-ARGENTINA.

3 - BARNETT,D.;CARTER,J.K.I.;HUGHES,D.E.;BAETZ,A.L.;FAYER,R.-Practicable diagnosis uf acute bovine sarcocystosis causally related to bovine abortion. Proceeding of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians.(1977)20,131-138.

4 - BARUTZKI,D.;ERBER,M.;BOCH,J.-(Efficiency of commercial disifectans on coccidial oocysts and sporocysts (Eimeria,Isospora,Toxoplasma,Sarcocystis,). Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift.(1981)94,(22) 451-452,454-455.

5 - BERTERO,S.;CUESACK,H.A.;TUSSOLINI,L.E.-Primeros muestreos sobre la frecuencia de quistes de Sarcocystis spp. en los mamíferos domésticos de consumo humano en la República Argentina.Revista de Medicina Veterinaria (1980)61,(5) 396-398.

6 - BOCH,J.;BOHM,A.;WEILAND,G.-(Coccidial infections (Isospora,Sarcocystis, Hammondia,Toxoplasma) in dogs (S.Germany).).Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift.(1979)92,12 240-243.

7 - BOCH,J.;ERBER,M.-(Prevalence,economic and hygienic importance of Sarcocystis spp. of cattle,sheep and pig.).Fleischwirtschaft (1981) 61(3) 427-431.

8 - BOCH,J.;LAUPHEIMER,K.E.;ERBER,M.-(Three Sarcocystis species in catle in suthern Germany.).Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift (1979) 91,(21) 421-426.

9 - BOCH,J.;SUPPERER,R.-Parasitología en Medicina Veterinaria.(1982) Editorial Hemisferio Sur,Buenos Aires- ARGENTINA.

10- BOERO,J.J.-Parasitosis Animales.(1977) Editorial EUDEBA,Buenos Aires. ARGENTINA.

11- BOHM,A.-(Investigations into the prevalence of coccidiosis (Sarcocystis,Isospora,Hammondia,Toxoplasma) of dogs in South-Germany).Inaugural Dissertation, Fachbereich Tiermedizin,München (1979) 26 pp.

12- CANTATORE DE FRANK,N. "Manual de Estadística Aplicada" Cap.X,Teoría del muestreo,pp 212-215 (1980)-Editorial Hemisferio Sur,Buenos Aires.ARGENTINA.

13- CERNA,Z.;MERHAUTOVA,V.-Sarcocystosis in cattle and sheep ar Prague abbatoir. Folia Parasitológica (1981)28 (2) 125-129.

14- COLLERY,P.;WEAVERS,E.-An outbreack of sarcocistosis in calves in Ireland. Irisch Veterinary Journal (1981) 35 (7/8) 159-162.

15- COLLINS,G.H.;CHARLESTON,W.A.G.-Studies on Sarcocystis species IV. A species infecting dogs and goats; development in goats.New Zealand Veterinary Journal (1979) 27 (12) 260-262.

16- COLLINS,G.H.;CHARLESTON,W.A.G.;WIENS.B.G.-(Studies on Sarcocystis species IV: A comparison of three methods for the detection of Sarcocystis species in muscle).New Zealand Veterinary Journal (1980) 28 (9) 173.-

17- COLLINS,G.H.;SHUTTON,R.H.;CHARLESTON,W.A.G.-Studies in Sarcocystis species V.A species infecting dogs and goats;observation on the pathology and serology of experimental sarcocystosis in goats.New Zealand Veterinary Journal (1980) 28,(8) 156-158.

18- (The) COMMITE ON SISTEMATICS AND EVOLUTION OF THE SOCIETY OF PROTOZOOLOGISTS. A newly revised classification of the protozoa. Journal of Protozoology,27 (1) 1980 - 37/58.

19- CURSACK,H.A.;NASIO,R.A.-Actualización en Sarcocistiasis y referencias complementarias sobre otros coccídios.Revista de Medicina Veterinaria (1981) 62,(4) 326-336.

20- DUBEY,J.-A Review of Sarcocystis of Domestic Animals and of other coccidia of cats and dogs.Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol.169 n 10 1061-1078.

21- DUBEY,J.P.-Quantitative parasitemia in calves fed Sarcocystis cruzi-sporocystis from coyote.American Journal Veterinary Research (1982) 43,(6) 1085-1085.

22- DUBEY,J.P.-Sarcocystis and other coccidia in foxes and other wild carnívores from Montana.-Journal of the American Veterinary Medical Association (1982) 181,11 1270-1271.

23- DUBEY,J.P.;BERGERON,J.A.-Sarcocystis as a cause of placentitis and abortion in cattle. Veterinary Pathology (1982) 19,(3) 315-318.

24- EUZEBY,J.;LESTRA,Th.;GAUTHEY,M.-Note de recherche:Sur les affinités taxonomiques des sarcosporidies.Bull.Soc.Vét.et Méd.Comparée-Lyon (1972) 74,207-417.

25- FASSI-FEHRI,N.;CABARET,J.;AMAQDOUF,A.;DARDAR,R.-(Sarcosporidiosis in cattle and sheeo in Morocco.Epidemiological studi by two histological techniques.). Annales de recherche Vetérinaires (1978) 9 (3) 409-417.

26- FAYER,R.-Multiplication of Sarcocystis bovicanis in the bovine bloodstream. Journal of Parasitology (1979) 65,(6,I)980-982.

27- FAYER,R.-Production of Sarcocystis cruzi sporocysts by dog fed experimentally infected and naturally infected beef.Journal of Parasitology (1977) 63,1072-1075.

28- FAYER,R.;LEEK,R.G.-Sarcocystis transmitted by blood transfusion. Journal of Parasitology (1979) 65,(6,I) 890-893.

29- FAYER,R.;LINCH,G.P.-Pathophisiological changes in urine and blood from calves experimentally infected with Sarcocystis cruzi,Parasitology (1979) 79,(3) 325-336.

30- FRELIER,P.F.-Bovine Sarcocystosis. Dissertation Abstracts International,B (1982) 42 (8) 3152.

31- FRELIER,P.;MAYHEW,I.G.;FAYER,R.;LUNDE,R.M.N.-Sarcocystosis: una epidemia en terneros de tambo. Science (1976) Vol 195 (4248) 1341/42.

32- FRELIER,P.;MAYHEW,I.G.;POLLOCK,R.-Bovine sarcocistosis: Pathologic features of naturally occuring infection with Sarcocystis cruzi. American Journal of Veterinary Research (1979)40,(5) 651-57.

33- GILES,R.C.Jrs.;TRAMONTIN,R.;KADEL,W.L.WHITAKER,K.;MIKSCH,D.;BRYANT,D.W.;FAYER R.-Sarcocistosis in cattle in Kentucky.Journal of the American Veterinary Medical Association (1980) 178,(6) 543-548.

34- GIOVANELLI,L.;GAGGINO,O.P.-Sarcosporidiosis en el sistema de conducción cardíaco.Revista de Medicina Veterinaria (1959) t40-N 1.

35- GOLUBKOV,V.I.-(Infection of dog and cat with Sarcocystis from fowl and duck). Veterinariya,Moscow,USSR, (1979) n 1 55-56.

36- GREENWAY,D.F.-Zooparásitos y zooparasitosis humanas. Imprenta de la Universidad de Córdoba.(1950)-ARGENTINA.

37- HEYDORN,A.O.-(Survival capaciti of Sarcocystis bovicanis sporocysts) Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift,(1980) 93,(14) 267-270.

38- HEYDORN,A.O.;MATUSCHKA,F.R.-(Final host specifiti of Sarcocystis species transmitted by dog).Zeitschrift für Parasitenkunde (1981) 66,(2) 231-234.

39- HINAIDY,H.K.;BURGU,A.;SUPPERER,R.;KALLAB,K.-(Incidence of bovine sarcosporidiosis in Austria).Wiener Tierärztliche Monatsschrift (1979)66,(5) 181-184.

40- HONG,C.B.;GILES,R.C.Jrs.;NEWMAN,L.E.;FAYER,R.-Sarcocistosis in a aborted bovine fetus.Journal of the American Veterinary Medical Association (1982)181 (6) 585-588.

41- JOHNSON,A.J.;JILDEBRANDT,P.K.;FAYER,R.-Experimentally induced Sarcocystis infection in calves:Pathology.American Journal Research,Vol.36 n 7 (1975) 995-999.

42- JUNGMANN,R.;BERGMANN,V.;HIEPE,T.;NEDJART,T.-(Experimentally Sarcocystis bovicanis infection in cattle with septicaemic course.). Monatshefte für Veterinärmedizin (1977) 32,(23) 885-889.

43- KEPKA,O.;OSTERREICHER,H.D.-(Incidence of sarcosporidia in cattle from Steiermark,Austria).Wiener Tierärztliche Monatschrift (1979) 66,(5) 184-185.

44- KIRK,R.W.-Terapéutica Veterinaria.pp.788.Compañía Editorial Continental S.A.,MEXICO (1970).

45- LANDSVERK,T.-An outbreack of sarcocistosis in a cattle herd. Acta Veterinaria Scandinavica (1979) 20,(2) 238-244.

46- LAUPHEIMER,K.E.-(Ocurrence of Sarcocystis bovicanis,S.Bovifelis and S.bovihominis in slaugther cattle in Suthern Germany.).Inaugural dissertation, Fachbereich Tiermedizin,München (1978) 46 pp.

47- MARGOLIN,J.H.;JOLLEY,W.R.-Experimental infection of dogs with Sarcocystis from wapiti.Journal of Wildlife Diseases (1979) 15, (2) 259-262.

48- MARKUS,M.B.-Technique for the separation of Sarcocystis from cardiac muscle. Journal of Parasitology (1979) 65,(5)699.

49- MARKUS,M.B.;KILLICK-KENDRICH GARNHAM,C.C.-The coccidial nature and life cycle of Sarcocystis.J.Trop.Med.and Hyg.(1974) 77 248-259.

50- MELHORN,H.;HEYDORN,A.O.-The sarcosporidia (Protozoa-sporozoa):life cycle and fine structure.Advances in Parasitology (1978) 16,43-91.

51- MICHAEL,S.A.;REFAII,A.H.H.El.;MORSI,T.A.-Preparation of Sarcocystis zoites antigen for a slide agglutination test.Journal of the Egyptian Society of Parasitology (1979)9,(2)299-304.

52- NEVOLE,M.;LUKESOVA,D.-(Method for the direct detection of Sarcocystis and their diagnostic reliabiliti.).Veterinarni Medicina (1981)26,(10) 581-584.

53- NIÑO,F.-Parasitología.(1965).Editorial BETA.

54- OGASSAWARA,S.;NIKITIN,T.;LARSSON,C.E.;LARSSON,M.H.M.A.;BARBUTO,O.J.M.; HAGIWARA,M.K.-(Experimental infection of dogs by feeding Sarcocystis infected bovine heart).Revista de Facultade de Medicina Veterinaria e Zootecnia da Universidade de Sao Paulo. (1978) 15,(1)51-57.

55- PERFUMO,C.J.;IDIART,J.R.;PIGAZZI,E.A.-Lesiones en músculo de cerdo producidas por Sarcocystis. Revista de Medicina Veterinaria (1979) 60,(3) 164-167.

56- REITER,I.;WEILAND,G.;ROSCHER,B.;MEYER,J.;FRAHM,K.-(Serological diagnosis of experimental sarcocystosis in cattle and sheep.).Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift (1981) 94,(21) 425-430.

57- RODRIGUEZ OSORIO,M.;GOMEZ GARCIA,V.;TOMAS SAFONT,M.J.;CAMPOS BUENO,M.;MANAS ALMENDROS,I.-Diagnosis of Sarcocystis infection in goats; comparison of peptic digestion of muscle tissue with immunodiffusion and indirect immunofluorescence.Revista Ibérica de Parasitología (1978) 38,(3/4) 793-804.

58- ROMMEL,M.-(Comparison of life cycle of the genera Sarcocystis,Frenkelia,Isospora,Cistoisospora,Hammondia,Toxoplasma and Besnoitia). Zeitschrift für

Parasitenkunde (1978) 57,(3) 269-283.

59- SCHREYER,N.A.;SCHREYER,D.S.;DALLA SANTINA,R.O.-Aplicación y comparación de cuatro técnicas de detección de Sarcocystis spp. en cerdos y bovinos faenados en frigorífico. Trabajo de graduación. 14pp.Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Esperanza - Santa Fe. REPUBLICA ARGENTINA.

60- SENEVIRATNA,P.;EDWARD,A.G.;DE GIUSTI,L.-Frequency of Sarcocystis spp. in Detroit, Metropolitan Area,Michigan.An.J.Vet.Res.Vol.36 n 3 (1975). 337-339.

61- SHIMURA,K.;ITO,S.;TSUNODA,K.-Sporocysts of Sarcocystis cruzi in mesenteric lymph nodes of dogs. National Institute of Animal Health Quarterly,Japan (1981) 21,(4) 186-187.

62- SUBERCASEAUX,B.;THIERMANN,E.;ATIAS,A.-Sarcocystis y sarcocistosis.Revista Argentina de Parasitología (1979)1,(1) 1 77-87.

63- VERCRUYSSE,J.;MARCK,E.van.-(Sarcosporidea of small rumiants in Senegal.). Revue D élevage et de Médicine Véterinaire del Pays tropicaux (1981) 34,(4) 377-382.

64- ZASUKHIN,D.N.;GADAEV,A.-(Life cycle of bovine sarcosporidia). Parasitologiya, Leningrad, USSR,(1978) 12,(2) 97-100.

65- ZASUKHIN,D.N.;VEL´YAMINOV,K.S.;D´YAKONOV,L.P.(Sarcocystis infection in animals).Veterinariya,Moscow, USSR (1979) n 1-49-55.

Del Reglamento de Tesis

ARTICULO 11°) La Facultad no se hace solidaria de las opiniones vertidas en una Tesis.