

Morfología y biología de *Sarcocystis capracanis* Fischer, 1979, primera cita en España***

HERNANDEZ—RODRIGUEZ, S.*; MARTINEZ—GOMEZ, F.*; LOPEZ—RODRIGUEZ, R.*; NAVARRETE, I.**

(*) Departamento de parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. 14071 Córdoba. España.

(**) Departamento de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. Cáceres. España.

(***) Trabajo de investigación realizado con cargo al Programa de Política Científica de la Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía.

Summary

The life-cycle of *Sarcocystis capracanis* has been studied for the first time in Spain. All three dogs shed sporulated sporocysts in their faeces after eating meat from a naturally infected goat. Few sporocysts were shed intermittently after 8-9 days p.i. Mean dimensions of sporocysts were 15,32 by 9,92 μm . Six goats were orally inoculated with 70.000 sporocysts each, which were killed 66 and 144 days p.i. Muscle cysts were studied using light and electron microscopy. They were surrounded by a short wall with a palisade-like protrusions of 1,85-2 μm . long by 0,7 μm wide, the bradizoites were of 14,8 μm by 0,7 μm . This is the first report of this parasite in Spain.

Key Words: *Sarcocystis capracanis*; life-cycle; dog-goat; first record in Spain.

Resumen

Se estudia el ciclo evolutivo de *Sarcocystis capracanis* por primera vez en España, mediante infecciones experimentales en perros y cabras. El período de prepatencia en los tres perros, tras la ingestión de carne de una cabra infectada naturalmente, es de 8-9 días. Los esporocistos, de 15,32 μm por 9,92 μm , son eliminados por los perros en escasa cantidad e intermitentemente. Seis cabras son inoculadas oralmente con 70.000 esporocistos por animal que se sacrifican (tres y tres) a los 66 y 144 días p.a., observándose quistes musculares que se estudian al microscopio óptico y electrónico. Dichos quistes están caracterizados por presentar una superficie en empalizada de 1,82-2 μm de longitud por 0,7 de anchura y numerosos bradizoitos en su interior de 14,8 por 0,7 μm . *S. capracanis* se cita por primera vez en España.

Palabras Clave: *Sarcocystis capracanis*; ciclo evolutivo; perro-cabra; primera cita en España.

Introducción

En los últimos años se ha comprobado que, los estudios morfológicos de los quistes musculares en el hospedador intermediario de *Sarcocystis*, no son caracteres suficientemente válidos para realizar un diagnóstico correcto, tan sólo son indicativos. Por eso es necesario, además, estudiar sus caracteres biológicos.

Es evidente que en España se ha hallado quistes de *Sarcocystis* en la cabra en numerosas ocasiones, sin que los autores le hayan asignado nombre específico alguno. Por esta razón, en el presente trabajo y mediante la utilización de criterios morfológicos y biológicos realizamos su identificación.

MateriaI y Métodos

1. Animales de experimentación

1.1. Hospedador definitivo.- Se utiliza un lote de cuatro perros de 4-6 meses de edad, sometido a control diario mediante análisis coprológico durante el mes anterior al comienzo de la experiencia.

1.2. Hospedador intermediario.- Se utilizan tres lotes (I, II y T) de 3 cabras de 5 meses de edad, excepto en el lote T que se utilizan 4. Dichos animales son controlados en nuestras instalaciones desde la semana siguiente al nacimiento.

2. Administración del inóculo

Para los perros se usan porciones musculares procedentes de cabras sacrificadas en el Matadero Municipal en las que previamente se había detectado la presencia de quistes de *Sarcocystis*. La administración se realiza por ingestión *ad libitum* de carne cruda.

Para las cabras se utiliza como vía de administración la oral y como inóculo una suspensión de esporocistos eliminados por los perros a la dosis de 70.000 esporocistos por animal.

3. Sacrificio

Los perros son mantenidos vivos hasta el final de la experiencia para obtener mediante técnicas de concentración los ooquistes isosporoides y esporocistos que se utilizan como base del inóculo para la infección en las cabras. Sólo un animal se sacrifica el 6.º día de la experiencia por inyección intravenosa de Pentotal con el fin de comprobar mediante raspados de la mucosa la presencia de ooquistes en las vellosidades intestinales así como delimitar el tramo intestinal afectado.

Las cabras se sacrifican por lotes: El lote I a los 66 días post administración (d.p.a.), el lote II a los 144 d.p.a. y el lote T, que se utiliza como testigo, se sacrifican 2 animales a los 66 d.p.a. y los otros dos a los 144 d.p.a. De dichos animales se obtienen porciones musculares de paletilla, muslo, lengua, diafragma, maseteros, intercostales, esófago, corazón y esfínter vesical. Asimismo se obtienen muestras de hígado, bazo, riñón, pulmón, ganglios linfáticos mesentéricos, cerebro e intestino.

4. Metodología

Para el estudio de los quistes aislados se utilizan técnicas de digestión artificial del tejido muscular mediante tripsina según Erber⁴. Porciones musculares y de órganos se fijan en formol 10%, se incluyen en parafina y los cortes se tiñen con Hematoxilina-Eosina.

Para el estudio de los quistes al Microscopio electrónico de transmisión se fijan las muestras en glutaraldehído al 5 por 100 en solución tamponada de Sorensen, se refijan en tetróxido de osmio y se incluyen en Araldita.

Los ultracortes obtenidos se contrastan en acetato de uranio y citrato de plomo. Para la observación al Microscopio electrónico de barrido se utilizan quistes obtenidos por digestión artificial lavados en suero fisiológico por centrifugación. Una muestra de sedimento es deshidratada y llevada al punto crítico para su observación, previo sombreado.

Resultados

1.1. Descripción del quiste

Los quistes de *S. capracanis* se estudian bajo dos modalidades: liberados de la fibra muscular (al microscopio óptico y electrónico de barrido) e *in situ*, en el interior de la célula hospedadora (al microscopio óptico y electrónico de transmisión).

Los quistes obtenidos mediante digestión tripsina y separados del tejido muscular que lo incluye (Fig. 1), miden por regla general 150-200 µm. de longitud por 20-40 µm. de anchura, aunque hay algunos que pueden medir excepcionalmente hasta 650 µm. de longitud por 60 de anchura. Presentan un aspecto fusiforme y se encuentran recubiertos por una serie de prolongaciones paralelas de igual longitud y anchura, perpendiculares al eje mayor del quiste y que lo tapizan a modo de empalizada, y cuya observación superficial ofrece un aspecto mamelonado (Fig. 2). La longitud de estas protuberancias es de 1,85-2 µm. por 0,7 µm. de anchura. De la pared del quiste parten hacia el interior trabéculas que lo dividen en una serie de compartimentos donde se alojan las células parasitarias, de las que distinguen dos tipos: los bradizoitos, muy numerosos, con forma de banana, de 14,8 µm. de longitud por 0,7 µm. de anchura, que ocupan casi todo el espacio del compartimento (Fig. 4) y los metrocitos, redondeados de 7 µm. de diámetro que se encuentran en la periferia de los compartimentos situados principalmente en los polos de los quistes. No se observan diferencias morfológicas de la pared entre los quistes procedentes de cabras sacrificadas a los 66 d.p.a y 144 d.p.a.

Se han observado también quistes de *Sarcocystis* en el cerebro a partir de digestiones artificiales y en cortes histológicos. Se diferencian de los de localización muscular sobre todo en la

morfología; aquéllos presentan una forma de elipsoide a subesférica, debido a que no están sometidos a las limitaciones de espacio y funcionalidad de la fibra muscular. Es de destacar también que las prolongaciones son más pequeñas en longitud, aproximadamente sobre los dos tercios de la que presentan los quistes musculares.

Los quistes incluidos en el tejido muscular y obtenidos mediante cortes histológicos presentan una morfología semejante a la que presentan cuando se aíslan mediante digestión, observándose las estructuras típicas que lo definen. (Fig. 3).

Al microscopio electrónico (Fig. 9), el quiste se encuentra limitado por una unidad de membrana, debajo de la cual subyace un acúmulo osmiófilo que la tapiza en todo su recorrido, si bien existen algunas zonas en las que el espesamiento osmiófilo se engrosa, como ocurre en la base de las digitaciones. El complejo unidad de membrana-estrato subyacente osmiófilo o pared primaria del quiste, lo limita externamente y lo recubre en todo su recorrido. Por debajo de la pared primaria se encuentra una cubierta amorfa con densidad electrónica casi uniforme, de la que parten prolongaciones hacia el interior para formar los septos; la anchura de esta capa es de 0,6-0,7 µm. Los bradizoitos que ocupan el interior del quiste se distribuyen de forma irregular, por lo que en una misma sección se pueden ver cortados transversal o longitudinalmente y a distintas alturas. Su ultraestructura es la característica de los zoitos de Eimeriidae.

1.2. Descripción de ooquistes y esporocistos

Localización: Zona apical de las vellosidades intestinales de duodeno y yeyuno (Fig. 7)

Período de prepatencia: 8-9 días

Eliminación: Escaso número diario de esporocistos libres y ooquistes isosporoides de forma intermitente durante el mes que dura la experiencia.

Descripción: Ooquistes isosporoides de 20 µm. por 16 µm. aproximadamente, totalmente esporulados, con una pared quística extremadamente fina y deformada que se rompe con facilidad, dejando libres dos esporocistos com-

pletamente esporulados, de 15,32 por 9,92 µm. de media con 4 esporozoitos y un cuerpo residual esporocístico en su interior (Figs. 5 y 6).

Discusión

Los quistes de *S. capracanis* se han encontrado prácticamente en toda la musculatura esquelética y también, pero en menor cantidad, en cerebro. Quistes en cerebro de esta misma especie de *Sarcocystis* son encontrados por Aryeetey y col.¹ en cabras sacrificadas a las 92 y 118 d.p.a. El tamaño del quiste es variable según los autores, pero en todos los casos nunca es superior al milímetro, aunque Fischer⁵ encuentra quistes degenerados de hasta 3 mm. de longitud en cabras infectadas naturalmente. La pared del quiste que se caracteriza por poseer una estructura en empalizada concuerda con la ofrecida por Aryeetey y col.¹ y Fischer⁵. El primero de estos autores apunta que la longitud de las prolongaciones varía con la edad del quiste en el sentido de que ésta aumenta con el envejecimiento (desde 1,1-1,6 µm. a los 56 d.p.a. hasta los 3,5 µm. de longitud a los 92 y 118 d.p.a.). Nosotros no hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al tamaño de las prolongaciones entre los de 66 d.p.a. y 144 d.p.a. El tamaño ofrecido por Fischer⁵ de dichas digitaciones es de 2,8 µm. de longitud.

Los bradizoitos contenidos en el interior de quistes maduros tienen un tamaño medio de 14,8 µm. de longitud por 3,5 µm. de anchura, semejante al aportado por Fischer⁵ (12, 4-15, 5 µm. por 3,1-4,7 µm.) y por Aryeetey y col.¹ (15 µm. por 3-4 µm.).

El ciclo se completa en el hospedador final, con la aparición de ooquistes isosporoides y esporocistos en heces, tras un período de prepatencia de 8-9 días. Collins y Crawford² trabajando con una especie sin concretar de *Sarcocystis* de la cabra encuentran el mismo período de prepatencia en el perro. Fischer⁵ lo cifra entre siete y ocho días y Dubey³ lo observa al décimo día tanto en el perro como en el coyote (*Canis latrans*). La eliminación de los elementos de diseminación por el hospedador final, que en nuestro caso se realiza en pequeñas cantidades y de forma intermitente, coincide con la descrita por Dubey³ en perros y

coyotes cuando se alimentan con carne de cabra que contienen quistes de *S. capracanis*, y es justo al contrario de lo que sucede en la mayoría de las especies de *Sarcocystis*, que se eliminan abundantemente durante los días primeros. Las dimensiones de los ooquistes isosporoides y esporocistos se encuentran dentro de los límites ofrecidos por Collins y Crawford² y por Fischer⁵.

Aunque las características morfológicas de la pared del quiste sean en algunos hospedadores determinantes para la identificación de la especie, es necesario cerrar el ciclo con el hospedador definitivo para realizar una identificación correcta. Los trabajos españoles consultados, hacen referencia a la presencia de *Sarcocystis* en la cabra sin mencionar la especie, por tanto, la identificación que nosotros hacemos de este parásito como *Sarcocystis capracanis*, a tenor de las identidades morfológicas y biológicas aportadas con anterioridad la realizamos como primera cita en España.

Referencias

1. Aryeetey, M., Mehlhorn, H.; Heydorn, A. O.—Electron Microscopic studies on the Development of *Sarcocystis capracanis* in Experimentally Infected Goats. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A.*, 247, 1980, 543-556.
2. Collins, G. H.; Crawford, S. J. S.—*Sarcocystis* in goats: prevalence and transmission. *N. Z. Vet. J.*, 26, 1978, 288.
3. Dubey, J. P.—Coyote as a final host for *Sarcocystis* species of goats, sheep, elk, bison, and moose in Montana. *Am. J. Vet. Res.*, 41, 1980, 1.227-1.229.
4. Erber, M.—Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von zwei *Sarcocystis*-Arten des Schweines. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 90 1977, 480-482.
5. Fischer, G.—*Die Entwicklung von Sarcocystis capracanis n. spec. in der Ziege*. Inaugural Dissertation, Frele Universität Berlin, 1979, 45 pp.

(Recibido el 14 de febrero de 1985; aceptado el 16 de mayo de 1985).

Explicación de las figuras

- Fig. 1. Quiste aislado mediante digestión trípica. Se encuentra tapizado por un borde de digitaciones en empalizada. Contraste de interferencias.
- Fig. 2. Imagen superficial de las digitaciones de un quiste ofreciendo un aspecto mamelonado. Contraste de Interferencias.
- Fig. 3. Quiste muscular en sección longitudinal. H & E.
- Fig. 4. Bradizoitos liberados por compresión de un quiste. Contraste de interferencias.
- Fig. 5. Esporocisto eliminado por el perro a los 10 d.p.a.
- Fig. 6. Id. Contraste de Interferencias.
- Fig. 7. Corte histológico de duodeno de perro sacrificado a los 6 d.p.a., se observa por debajo de la membrana basal de las células epiteliales una vacuola parasitífera con un ooquiste que contiene dos esporocistos. H & E.
- Fig. 8. Compartimento de un quiste aislado mediante digestión trípica, se observan numerosos bradizoitos. Microscopía electrónica de barrido.
- Fig. 9. Detalle al microscopio electrónico de transmisión, de las digitaciones en empalizada del quiste.



